ALAÍDE BARRETO
ANNA CRISTINA NEVES
VALÉRIA NACIFE
VIVIANE MOREIRA
GUSTAVO COELHO
VICTOR RESENDE

Introdução à Biologia Celular

ORGANIZAÇÃO
SANDRA MAYWORM

Estácio

Sumário

3. Comunicação e formação de comunidades celulares **61**

4. Núcleo e Cromossomos **93**

5. Componentes citoplasmáticos 121

Apresentação

É com grande dedicação e prazer que escrevemos o prefácio da primeira edição deste livro. Primeiramente, por sermos professores da disciplina de Biologia Celular de diferentes cursos de graduação da área de saúde da Universidade Estácio de Sá e termos participado da organização da montagem desta obra juntamente com outros docentes e pesquisadores de outras instituições de ensino. Segundo, por reconhecermos a qualidade da escrita dos autores, retratando de forma atualizada, multidisciplinar e integrada os diversos assuntos da área de Biologia Celular.

A disciplina de Biologia Celular, também conhecida como Citologia, é básica e de grande importância às diferentes áreas da saúde, uma vez que é ela que promove o aprendizado de como a vida se processa a partir do entendimento em diferentes níveis de organização celular.

Há algum tempo, a Biologia Celular caracterizava-se por ser um estudo mais visual-descritivo acerca das células e suas funções. Com o advento de novas tecnologias, esta Ciência passou a ser menos visual e mais experimental-dedutiva, na qual os processos em nível microscópico tornaram-se experimentalmente comprovados. Deste modo, o conhecimento da Biologia Celular passou a ser cada vez mais notório no século atual, como base para construção de fundamentos no desenvolvimento da pesquisa em diferentes áreas, tais como Histologia, Bioquímica, Fisiologia, Genética, Biotecnologia, Oncologia, Farmacologia, dentre outras.

Neste livro, portanto, estão abordados os principais conteúdos que fazem parte desta Ciência. O livro tem como ponto de partida as biomoléculas, ferramentas importantes na construção e manutenção da vida, já que é comprovado experimentalmente que a primeira célula tenha surgido da interação entre elas. São abordados também alguns pontos peculiares da Biologia Celular, integrantes do que chamamos de "dogma da Biologia Celular", que consiste no entendimento de que o DNA origina o RNA, e que o RNA origina uma proteína e que, a partir desta biomolécula, se desenvolvem os eventos celulares. Deste preceito, as interações entre DNA, RNA, proteínas e outras substâncias, discutidas ao longo desse livro, fornecem o suporte para a compreensão de como a célula sobrevive, se multiplica, se comunica, se programa, se movimenta e executa qualquer outra determinada função.

Com o conhecimento das biomoléculas, o livro promove aos alunos o entendimento de que essas interagem construindo os compartimentos celulares, dentre eles o limite mais externo da célula, a membrana plasmática, sendo, portanto, o compartimento responsável por manter a qualidade da célula através dos mecanismos de transporte de diferentes solutos.

Outro assunto que o livro aborda é o modo no qual as células se reconhecem, promovendo o processo de comunicação intercelular. É também retratado que o centro da célula eucariota é um compartimento fechado, com o núcleo que controla todo o funcionamento celular coordenando a maquinaria biossintética da célula concomitantemente com o funcionamento de um sistema de endomembranas.

De forma clara, é detalhado o estudo das organelas citoplasmáticas, dos componentes do citoesqueleto e a complexidade com que as células sofrem divisão celular, promovendo a sua proliferação. Veremos que uma única célula é capaz, após longos processos de modificação, de se diferenciar em diversos tipos celulares, cada qual exer-

cendo uma função específica em um organismo, e ainda estabelecer uma interdependência entre elas apesar de suas diferenças.

Dessa forma, torna-se evidente que a vida ao longo da história interliga-se entre todos os organismos, seja ele simples ou extremamente complexo, tornando o estudo da Biologia Celular um assunto essencial para o entendimento da vida.

RENATA MANFRINATO E GLÁUCIO DIRÉ

1

Bases Químicas da Constituição Celular. Estrutura, Funções e Evolução.

ALAÍDE BARRETO DE SÁ

1 Bases Químicas da Constituição Celular. Estrutura, Funções e Evolução.

CONCEITO

Cosmogonia

Cosmogonia é o termo utilizado para abrigar lendas e teorias sobre as origens do universo de acordo com as religiões, mitologias e ciências através da história.

CONCEITO

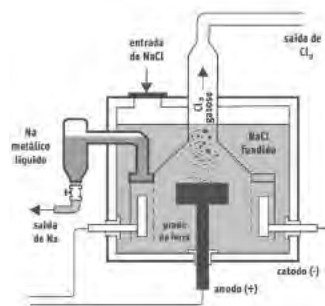
Carbono

Carbono é um elemento químico de símbolo C, de número atômico 6 e massa atômica 12u, pertencente ao grupo 14, elemento básico para vida, sendo conhecidos cerca de 10 milhões de compostos de carbono.

CONCEITO

Polímeros

Polímeros são macromoléculas, resultado da formação por encadeamento de moléculas pequenas, chamadas monômeros e geralmente se combinam seguindo um padrão.

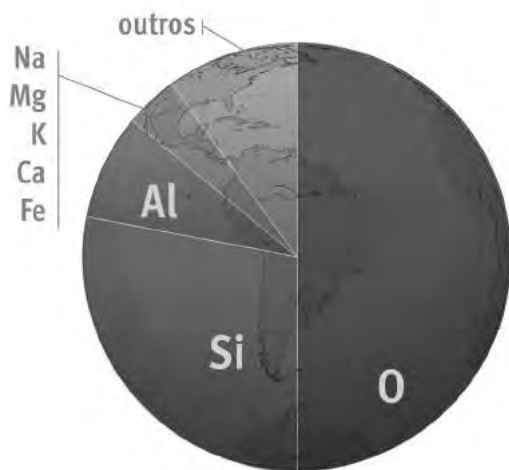
Átomos: os constituintes da matéria

A formação da vida como conhecemos sempre foi uma das preocupações da humanidade e o seu conhecimento exige uma série de passos complexos. De fato, cada civilização conhecida da Antropologia teve uma ***cosmogonia*** – uma história de como o mundo começou e de como os homens surgiram. A ausência de uma cosmologia para essas sociedades é tão inconcebível quanto a ausência da própria linguagem. Mas, como surgiu a vida? Essa é sem dúvida, uma das principais perguntas feitas em todos os tempos. A pergunta é simples, contudo a sua resposta não é trivial e, existem vários pontos que permanecem ainda sem esclarecimentos.

Apesar de toda a polêmica vigente a respeito da origem da vida, uma coisa é certa; os diversos organismos vivos não passam meramente de um sistema químico que obedecem as leis da Química e da Física. A química da vida está fundamentada em compostos de ***carbono***.

Ela depende quase exclusivamente de reações que ocorrem em soluções aquosas, em uma faixa de temperatura relativamente estreita, que existe na Terra cuja química é bastante complexa e, é dominada e coordenada por cadeias de moléculas ***poliméricas***. Estas moléculas poliméricas permitem que os diversos organismos nasçam, cresçam e se reproduzam.

O universo é feito de matéria. Definimos matéria como qualquer coisa que ocupe lugar no espaço e tenha massa. A matéria é formada por elementos químicos em combinações variadas. Os elementos químicos são substâncias que não podem ser decompostas em algo mais simples, através de reações químicas. Em termos mais modernos, os elementos químicos são substâncias cujos átomos possuem todos os mesmos números de prótons em seus núcleos.

EXEMPLO

Eletrólise

Submetendo o sal de cozinha (cloreto de sódio) à passagem de uma corrente elétrica obteremos um metal brilhante (o sódio) e um gás verde pálido (o cloro). Neste exemplo, o cloreto de sódio foi decomposto em duas substâncias mais simples. Contudo, não conseguiremos decompor o sódio e o cloro em outras substâncias mais simples. Os elementos químicos, portanto, correspondem à forma mais simples da matéria.

Os mais de cem elementos encontrados no universo são organizados na tabela periódica. Estes elementos não são encontrados em quantidades iguais.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
	1A	2A	3B	4B	5B	6B	7B	8B	8B	8B	1B	2B	3A	4A	5A	6A	7A	BA
1	1 H																	2 He
2	3 Li	4 Be											5 B	6 C	7 N	8 O	9 F	10 Ne
3	11 Na	12 Mg											13 Al	14 Si	15 P	16 S	17 Cl	18 Ar
4	19 K	20 Ca	21 Sc	22 Ti	23 V	24 Cr	25 Mn	26 Fe	27 Co	28 Ni	29 Cu	30 Zn	31 Ga	32 Ge	33 As	34 Se	35 Br	36 Kr
5	37 Rb	38 Sr	39 Y	40 Zr	41 Nb	42 Mo	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd	47 Ag	48 Cd	49 In	50 Sn	51 Sb	52 Te	53 I	54 Xe
6	55 Cs	56 Ba	57-71 *	72 Hf	73 Ta	74 W	75 Re	76 Os	77 Ir	78 Pt	79 Au	80 Hg	81 Tl	82 Pb	83 Bi	84 Po	85 At	86 Rn
7	87 Fr	88 Ra	89-103 **	104 Rf	105 Db	106 Sg	107 Bh	108 Hs	109 Mt	110 Ds	111 Rg	112 Cn	113 Uut	114 Uuq	115 Uup	116 Uuh	117	118 Uuo

*	57 La	58 Ce	59 Pr	60 Nd	61 Pm	62 Sm	63 Eu	64 Gd	65 Tb	66 Dy	67 Ho	68 Er	69 Tm	70 Yb	71 Lu
**	89 Ac	90 Th	91 Pa	92 U	93 Np	94 Pu	95 Am	96 Cm	97 Bk	98 Cf	99 Es	100 Fm	101 Md	102 No	103 Lr

Legenda: Metais alcalinos; Metais alcalino-terrosos; Metais de transição; Lantanídeos; Actinídeos; Metais representativos; Semi-metais; Não metais; Halogênios; Gases nobres.

Nº Atômico / Símbolo / Nome / *Massa Atômica*

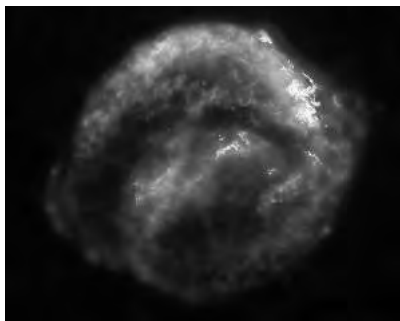
CURIOSIDADE

A crosta terrestre é constituída por metade de oxigênio, 28% de silício, 8% de alumínio, 3 a 5% de sódio, magnésio, potássio, cálcio e ferro e quantidades menores de outros elementos. Cerca de 98% da massa de todo elemento vivo é composto de seis elementos: carbono, hidrogênio, nitrogênio, oxigênio, fósforo e enxofre. Os outros elementos não são menos importantes. Um bom exemplo é o cálcio, presente nas estruturas ósseas e no esmalte dos dentes, na forma de hidroxiapatita, $Ca_5(PO_4)_3(OH)$, o ferro, presente na estrutura de uma molécula conhecida como hemoglobina, responsável pela absorção e transporte de oxigênio no sangue, o sódio e o potássio, que contribuem para o balanço osmótico em membranas celulares. Vale a pena destacar, ainda, vários outros metais, sem os quais a vida humana não existiria, entre eles estão o crômio, o manganês, o cobalto, o níquel, o cobre e o molibdênio, envolvidos em processos metabólicos que regulam a produção de energia e o bom funcionamento do organismo.

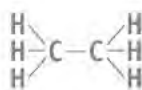
AUTOR

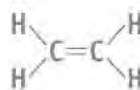
Os britânicos Margareth Burbidge, astrofísica, ao lado de seu marido Geoffrey Burbidge, astrônomo e Fred Hoyle, (1915-2001), astrônomo, bem como o norte-americano William Fowler (1911-1995) deram uma explicação para as diferentes abundâncias dos elementos químicos. Esta teoria, publicada em 1957 (que ficou conhecida como "B^2FH", letras iniciais dos sobrenomes dos autores), indica que são os diversos tipos de estrelas, em diferentes momentos da evolução delas, que fabricam a maioria dos elementos químicos, a partir do hidrogênio, por meio de reações nucleares.

CONCEITO

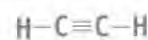
Supernova

Supernova é um corpo celeste que surge em decorrência da explosão de uma estrela, seu brilho pode ser até 10 bilhões de vezes maior que seu estado original, mas que tende a se desvanecer após algumas semanas ou meses.

Origem dos elementos químicos

Onde e como surgiram os elementos químicos?

Os átomos que nos compõem não apenas são os mesmos que os das estrelas: a maioria deles foi, na verdade, produzido nas estrelas.

Começando pelos primordiais hidrogênio e hélio, elementos mais densos como ferro, oxigênio, carbono e nitrogênio foram gerados numa série de reações termonucleares e então espalhados pelo espaço quando essas estrelas morreram e explodiram como ***supernovas***, num frenesi termonuclear final. Como todos os seres vivos da Terra são formados por elementos químicos, podemos concluir que nós somos verdadeiramente filhos de estrelas que provavelmente nem existem mais! Mas, como tudo começou? Bem, o universo teve início a cerca de pouco mais de 14 bilhões de anos de acordo com o modelo de universo mais aceito pela comunidade científica, conhecido como modelo cosmológico padrão. Este instante inicial é denominado de *Big Bang*. Poucos minutos após a Grande Explosão (BB ou *Big Bang*), o universo se resfriou até atingir o ponto em que prótons e nêutrons puderam existir e se fundir, dando origem aos elementos químicos que conhecemos.

A vida à base de carbono

Dentre todos os elementos químicos produzidos pelas estrelas o carbono merece destaque porque a química do ser vivo usa e abusa deste elemento químico. A razão para a seleção do carbono como elemento químico vital se deve às suas propriedades químicas peculiares e não à sua abundância. Devido às suas propriedades químicas, o carbono é capaz de interagir com ele mesmo e com outros átomos para formar quatro ligações covalentes simples ou ligações duplas e triplas, estáveis com átomos de carbono ou outros elementos químicos.

Etano	Etileno	Acetileno
H_3C-CH_3	$H_2C=CH_2$	$H-C\equiv C-H$
C_2H_6	C_2H_4	C_2H_2

Consequentemente, ele é capaz de formar um número quase ilimitado de moléculas lineares, ramificadas e cíclicas com tanta diversidade de formas, tamanhos e composição. A grande maioria das biomoléculas

pode ser considerada um derivado dos hidrocarbonetos, que tiveram os átomos de hidrogênio substituídos por diversos grupos funcionais que conferem a estas moléculas propriedades químicas específicas (forma, tamanho, polaridade, reatividade e solubilidade) formando as várias famílias de compostos orgânicos que conhecemos. Muitas biomoléculas são polifuncionais contendo dois ou mais tipos de grupos funcionais cada qual com suas caraterísticas químicas de reação que confere a estas moléculas sua disposição no espaço tridimensional.

Existem átomos que são muitos mais abundantes na crosta terrestre e apresentam propriedades químicas semelhantes ao carbono.

Por que outros átomos não foram escolhidos para serem formadores do esqueleto principal de moléculas bioquímicas?

EXEMPLO

O silício (Si) é um dos elementos mais abundantes na crosta terrestre que o carbono. O silício pertence ao mesmo grupo do carbono (grupo IV A) e está localizado diretamente abaixo deste na tabela periódica. Consequentemente, o silício é o elemento que mais se assemelha quimicamente ao carbono. O silício, como o carbono, também é capaz de formar quatro ligações estáveis com ele mesmo e com outros elementos. Apesar de algumas características semelhantes, a química do silício é mais limitada do que a do carbono. O silício não forma ligações Si–Si com a mesma diversidade e a baixa energia do que os átomos de carbono, o que implica uma maior dificuldade na formação de longas cadeias poliméricas. A substituição direta de carbono por silício, na bioquímica terrestre, iria produzir moléculas que seriam quase que imediatamente hidrolisadas na água. Além disso, a afinidade do silício pelo oxigênio é tão forte que, se o silício for colocado em um meio aquoso, vai formar um reservatório de sílica (SiO_2), através da retirada de todo o oxigênio da molécula de água (H_2O). Portanto, uma bioquímica com base em tais compostos iria requerer um ambiente livre de oxigênio. Além disso, compostos derivados do silício de cadeia longa, como silanos e muitos siloxanos, são espontaneamente inflamáveis a 0°C.

Biomoléculas: compostos de carbono com uma grande variedade de grupos funcionais

Um conjunto de aproximadamente mil moléculas orgânicas diferentes dissolvidas na fase aquosa ***(citosol)*** existe nas células. Estas moléculas são ***metabólitos*** centrais das rotas principais que ocorreram em quase todas as células, isto é, os metabólitos e as suas rotas foram conservados durante o curso da evolução nas células primitivas. Estas moléculas incluem os aminoácidos comuns, nucleotídeos, açúcares e seus derivados fosforilados e ácidos *mono, di* e *tricarboxilicos*. Estas mo-

CONCEITO

Citosol

Citosol é o líquido que preenche o espaço entre a membrana plasmática e o núcleo celular, sustentando as organelas da célula, formando o citoplasma.

CONCEITO

Metabólito

Metabólito é o produto do metabolismo de uma determinada molécula ou substância.

CONCEITO

Células eucarióticas

Células eucarióticas são aquelas que possuem membrana nuclear individualizada e várias organelas distintas, podendo ser animais ou vegetais.

CONCEITO

Macromoléculas

Macromoléculas são polímeros com peso molecular acima de 5kDa (ou cinco quilo Dalton; 1 Dalton equivalente a 1 duodécimo da massa do carbono–12; 1 quilo Dalton é igual a 1000 daltons) formadas a partir da ligação covalente de moléculas menores denominadas de monômeros. Estes monômeros podem ou não ser idênticos, mas sempre têm estruturas químicas similares. Existem muitas moléculas biológicas que são macromoléculas

léculas estão aprisionadas no interior das células porque a membrana plasmática é impermeável a elas, embora existam transportadores de membrana específicos que são capazes de catalisar o deslocamento de algumas moléculas para dentro e para fora da célula ou entre compartimentos nas ***células eucarióticas***.

ATENÇÃO

Existem outras biomoléculas pequenas específicas para certos tipos de células ou organismos. Por exemplo, moléculas pequenas provenientes do **metabolismo secundário** que exercem papéis específicos na vida da planta. O metabolismo secundário em plantas, por exemplo, engloba a produção de compostos com função ecoquímica, como a proteção contra estresses bióticos e abióticos e a comunicação entre plantas e destas com outros organismos. Logo, as plantas podem até sobreviver sem estas substâncias provenientes do metabolismo secundário, contudo, a sua qualidade de vida será prejudicada. O conjunto de pequenas moléculas em uma dada célula é chamado de **metaboloma** da célula.

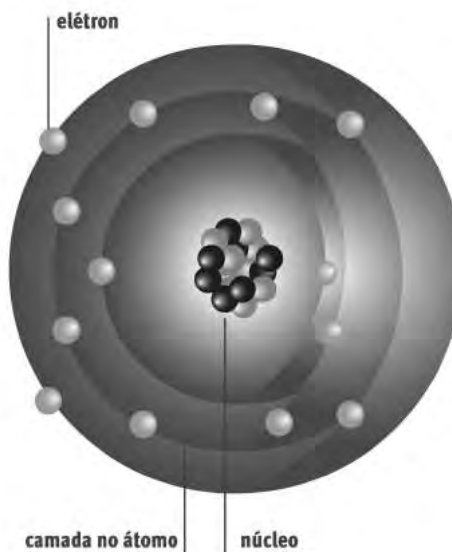
As quatro principais ***macromoléculas*** biológicas são proteínas, carboidratos, lipídeos e ácidos nucleicos.

Cada tipo de macromoléculas realiza alguma combinação de uma diversidade de funções tais como:

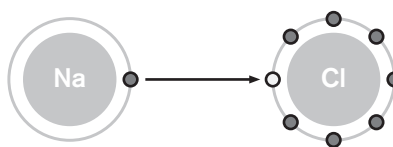
ARMAZENAMENTO DE ENERGIA	SUPORTE ESTRUTURAL	PROTEÇÃO
CATÁLISE	TRANSPORTE	DEFESA
REGULAÇÃO	MOVIMENTO	HEREDITARIEDADE

EXEMPLO

Estes papéis não são exclusivos, por exemplo: tanto os carboidratos como as proteínas podem desempenhar papéis estruturais, sustentando e protegendo tecidos e organismos. Contudo, somente, os ácidos nucléicos desempenham o papel de armazenamento de informação e funcionam como material hereditário, transportando traços individuais das espécies.

RESUMO

Como vimos anteriormente, as propriedades químicas de cada substância formada dependem da estrutura de seus átomos e da maneira como eles podem interagir e formar ligações com outros átomos para constituir as substâncias compostas.

Ligações químicas em sistemas biológicos

Mas de que maneira os átomos se combinam para formar moléculas e agregados, e por que os átomos formam ligações? E, como a membrana plasmática é capaz de manter aprisionadas estas macromoléculas no interior das células? Afinal, o que são ligações químicas?

Quando consideramos os átomos, estamos interessados primeiramente nos elétrons, porque o comportamento destes define como mudanças químicas ocorrem nas células vivas.

Estas mudanças ou reações químicas ocorrem no nível da composição atômica das substâncias. Os átomos só se unem, através de uma **ligação química**, para formar um agregado estável, que constituem as substâncias compostas, se o resultado desta união for mais estável e tiver menor energia do que os átomos isolados. Uma ligação química pode ser definida como a força que mantêm os átomos unidos. Ela (a ligação química) apresenta natureza elétrica. Esta ocorre quando o arranjo resultante da interação entre os átomos possibilita um estado energético menor (e assim maior estabilidade) do que os átomos isolados. Como os átomos de todos os elementos são instáveis (com exceção dos gases nobres que são estáveis e, portanto, pouco reativos em condições ambientes), todos os átomos têm tendência de formar substâncias compostas através do estabelecimento de ligações. As diferenças nas propriedades entre os materiais (água, óleos, gorduras entre outros) que conhecemos se deve, principalmente, às ligações químicas existentes entre os átomos e à arrumação espacial que daí decorre.

EXEMPLO

A seguir, uma representação gráfica do processo onde os átomos se aproximam e ocorre a transferência de elétron do sódio para o cloro, formando o cloreto de Sódio.

Características das ligações químicas

As ligações químicas são caracterizadas de várias maneiras. Uma das características óbvias de uma ligação é a sua força. Ligações fortes quase nunca se rompem em temperaturas fisiológicas. Uma ligação covalente é dita como uma ligação forte, pois apresenta uma energia de ligação entre 50 a 110,0 kcal/ mol (cento e dez quilo caloria por mol).

CONCEITO

Interações

Interação química significa que as espécies se atraem ou se repelem entre si, sem que haja quebra ou a formação de novas ligações químicas.

NOME	BASES DA INTERAÇÃO	ESTRUTURA
Ligação Covalente	Compartilhamento de pares de elétrons	H — O, | ‖, — N — C —

Ela ocorre quando dois ou mais átomos compartilham pares de elétrons de modo que cada par seja formado por um elétron de cada um dos átomos.

EXEMPLO

Os átomos podem se unir compartilhando um par eletrônico (ligação simples), dois pares eletrônicos (ligação dupla) ou três pares eletrônicos (ligação tripla).

Molécula de Hidrogênio	Molécula de Oxigênio	Molécula de Nitrogênio
H—H	O=O	N≡N
H_2	O_2	N_2
ligação simples	ligação dupla	ligação tripla

O resultado desta ligação é a formação de uma molécula mais estável do que seus respectivos átomos isolados.

ATENÇÃO

Originalmente, acreditava-se que apenas as ligações covalentes mantinham os átomos unidos nas moléculas, hoje se sabe que as forças atrativas fracas são importantes para manter diversas macromoléculas unidas. Os principais tipos de ligações fracas importantes em sistemas biológicos são as interações: eletrostáticas, hidrofóbicas, forças de van der Waals e ligações de hidrogênios.

Importância das Interações fracas em sistemas biológicos

As ligações fracas ou ***interações*** são vitais para o perfeito funcionamento de todas as macromoléculas biológicas.

Interações de van der Waals (ou Forças de London)

Elas surgem a partir de uma força atrativa não específica formada quando dois átomos ficam próximos um do outro.

NOME	BASES DA INTERAÇÃO	ESTRUTURA
Interação de van der Waals	Interação de nuvens eletrônicas	H — H ··· C (H, H, H, H)

Tais ligações não são baseadas na existência de separação de cargas permanentes e, sim nas flutuações de cargas induzidas, isto é, provocadas pela aproximação das moléculas. Portanto, as interações de van der Waals correspondem às atrações entre dipolos atômicos ou moleculares instantâneos. Estes dipolos instantâneos são resultados de uma variação aleatória nas posições dos elétrons ao redor do núcleo, que criam um dipolo transiente elétrico induzindo à formação de um dipolo transiente de carga oposta no átomo mais próximo dele.

As Interações de van der Waals são mais fracas do que as ligações de hidrogênio, porém, interagem a uma distância similar a esta, de aproximadamente 2 a 4 angstrons (1 angstom equivale a 0,1nm).

Ligações de Hidrogênio.

Elas são formadas entre um átomo eletronegativo com um átomo de hidrogênio covalentemente ligado a um diferente átomo eletronegativo.

NOME	BASES DA INTERAÇÃO	ESTRUTURA
Ponte de hidrogênio	Compartilhamento de átomo	$-\overset{\displaystyle H}{\overset{\vert}{N}}-H^{\delta+}\cdots O^{\delta-}=\overset{\vert}{C}-$

As ***ligações de hidrogênio*** de maior importância biológica envolvem átomos de hidrogênio covalentemente ligados a átomos de oxigênio (O—H) ou de nitrogênio (N—H). Elas são mais fortes do que as interações de van der Waals e mais fracas do que as ligações covalentes. Apresentam papéis importantes na determinação e na manutenção das formas tridimensionais das macromoléculas tais como proteínas e DNA.

Interações hidrofóbicas.

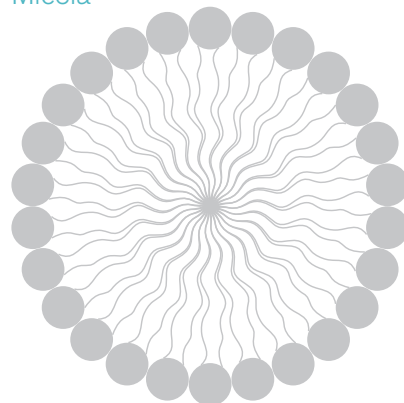
Corresponde à autoassociação de substâncias não polares (ou apolares) em um meio aquoso. Esta autoassociação não resulta da atração intrínseca entre as partes apolares, mas uma tendência das moléculas se aglomerarem para apresentar a menor área hidrofóbica possível exposta ao solvente aquoso.

NOME	BASES DA INTERAÇÃO	ESTRUTURA
Interação hidrofóbica	Interação de substâncias apolares	$-CH_2-CH_2-H \circ\circ\circ\circ H-CH_2-CH_2-$

Quando estes compostos apresentam regiões polares ou carregadas e regiões apolares (também chamadas de substâncias anfipáticas), estas substancias são arranjadas de forma a maximizar a interação da parte polar com o solvente. Estas estruturas estáveis de compostos anfipáticos em água, chamados de ***micelas,*** podem conter milhares de moléculas.

Ligações de hidrogênio

As ligações de hidrogênio eram denominadas de **pontes de hidrogênio.**

Micela

Estrutura globular formada por uma associação de moléculas anfipáticas, compostos que possuem aspectos polares e apolares simultaneamente.

EXEMPLO

Podemos citar proteínas, pigmentos, fosfolipídios de membranas, certas vitaminas e esteroides, como exemplos de substâncias anfipáticas.

Interações eletrostáticas (ou interações iônicas).

Este tipo de interação, quando presente, por exemplo, nas proteínas, ocorre entre grupos de cargas opostas, os cátions (carga positiva) e os ânions (carga negativa) se atraem e se mantêm unidos. Elas são denominadas pontes salinas ou ligações salinas.

NOME	BASES DA INTERAÇÃO	ESTRUTURA
Interação iônica	Atração de cargas opostas	$-NH_3^{+} \cdots {}^{-}O-C(=O)-$

As interações eletrostáticas, embora as suas forças variem com o solvente e sejam enfraquecidas pela água, são efetivas em distâncias muito maiores do que a ligação de hidrogênio.

Composição molecular dos organismos vivos: sua química e biologia

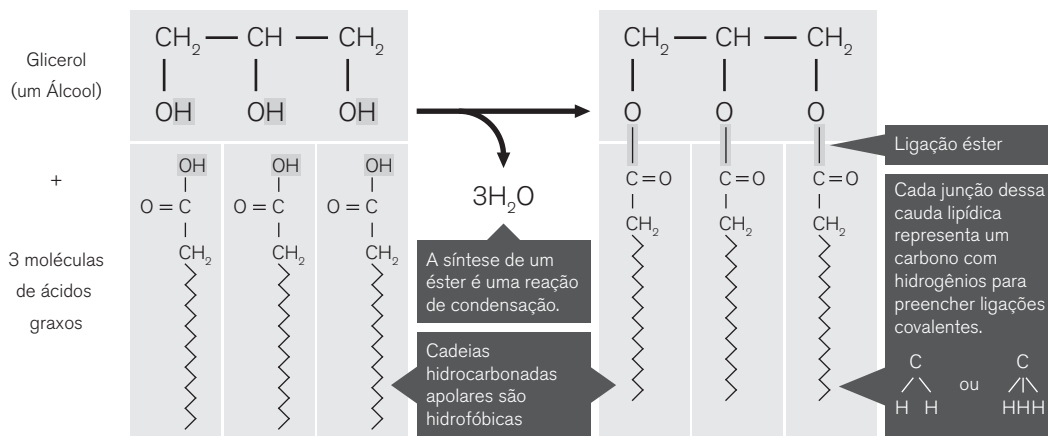
Lipídeos, carboidratos, ácidos nucleicos e proteínas são tipos de macromoléculas presentes, aproximadamente nas mesmas proporções, em todos os organismos vivos. As macromoléculas são formadas pela união de moléculas menores, denominadas de monômeros, através de ligações covalentes. Estes monômeros podem ou não ser idênticos, mas eles têm estruturas químicas similares. Basicamente, as moléculas com massas moleculares acima de 1.000 são consideradas macromoléculas. Neste tópico, consideraremos a composição molecular dos organismos vivos sua química e biologia. Então vamos a elas!

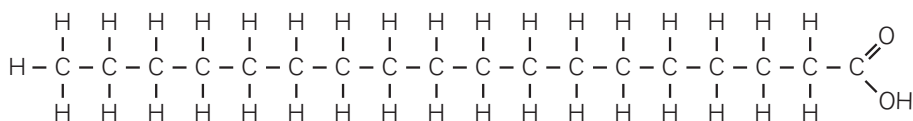
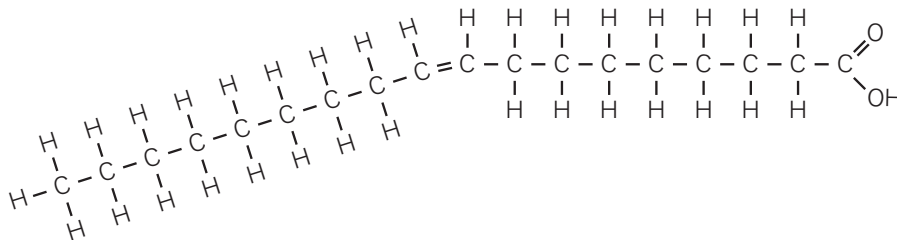
Lipídeos.

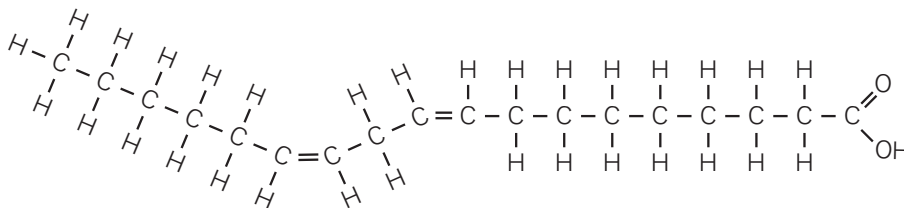
Os lipídeos formam um grupo de compostos cuja natureza química é extremamente variada. A propriedade que todos compartilham está na solubilidade em solventes orgânicos e insolubilidade em água, que é devida a presença de muitas ligações covalentes apolares. Quando moléculas apolares estão próximas suficientemente, forças de van der Waals fracas, mas aditivas, as mantêm unidas. Estas enormes agregações moleculares não são polímeros em um sentido químico restrito, já que suas unidades (moléculas de lipídeos) não estão unidas por ligações covalentes, como estão os aminoácidos nas proteínas. Contudo, elas são consideradas polímeros de unidades lipídicas individuais.

No organismo, de maneira geral, a gordura da dieta desempenha várias funções biológicas importantes, tais como:

- isolantes térmicos (no tecido subcutâneo e ao redor de certos órgãos);
- isolantes elétricos (permitem a rápida propagação das ondas de despolarização ao longo os nervos mielinizados);
- agentes emulsificantes;
- fornecimento de vitaminas (A, D, E, K);
- fonte de armazenamento de energia (a oxidação de ácidos graxos gera mais energia do que a glicose),
- transporte de combustível metabólico,
- componentes de biossinalização intra e intercelulares e precursores de substâncias essenciais.

Alguns lipídeos estão combinados com outra classe de substâncias tais como proteínas (lipoproteínas) e carboidratos (glicolipídeos).

Segundo Nelson e Cox (no livro: *Princípios da Bioquímica de Lehninger*) eles são classificados de acordo com as suas funções em lipídeos de armazenamento e estruturais de membrana.

Os lipídeos demonstrados apresentam glicerol ou esfingosina como esqueleto.

Os principais lipídeos de armazenamento são as gorduras e as ceras (triglicerídeo).

Síntese de um triacilglicerol (triglicerídeo, triglicerídeos, gorduras ou gorduras neutras).

ATENÇÃO

As gorduras são sólidas e os óleos são líquidos e ambos são derivados de ácidos graxos (AG). Os AG são ácidos carboxílicos com cadeias hidrocarbonadas de tamanho variável (4 a 36 carbonos ou C_4 a C_{36}).

Ácidos graxos saturados: as gorduras que contém AG saturados são chamadas gorduras saturadas. Como exemplos de alimentos ricos nessas gorduras citamos: carne vermelha, bacon, leite integral, ovos, manteiga, chocolate. O excesso de ingestão desses alimentos aumenta os níveis de colesterol no sangue e aumenta o risco de de desenvolvimento de doenças coronarianas.

Gorduras monoinsaturadas são encontrados em abacate, nozes, azeite de oliva, por exemplo e são benéficos na redução do colesterol diminuindo o risco de desenvolvimento em doenças cardíacas.

Ácidos graxos poli-insaturados: encontrados em óleo de girassol, óleo de milho, óleo de soja, em peixes de água fria. Ricos em ômega 3 e 6, ajudam a manter baixas as taxas de colesterol.

Eles podem ser classificados também como saturados (ausência de ligação dupla) e insaturados (presença de ligações duplas). Existe a possibilidade de isômeros *cis* e *trans* nos AG, contudo somente os isômeros *cis* são de ocorrência natural. Os lipídeos estruturais de membrana são moléculas anfipáticas (uma parte da membrana é hidrofóbica e a outra é hidrofílica). O seu empacotamento em camadas (chamadas de bicamadas de membrana) é devido a sua interação hidrofóbica entre si e hidrofílica com a água. São classificados, também em, fosfolipídeos, glicolipídeos, esfingolipídeos, lipídeos éter de Archaea e ***esteroides***.

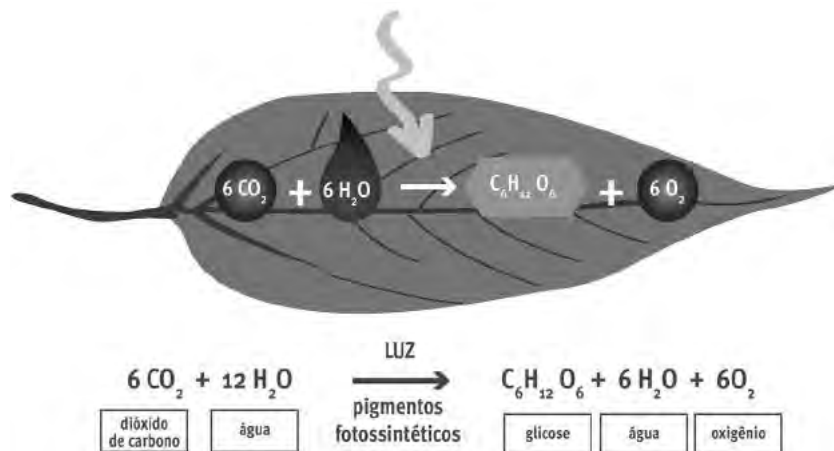
Esteroides

O colesterol é o principal esteróide nos tecidos animais e é sintetizado no fígado, mas, também pode ser absorvido a partir de alimentos. Um excesso no sangue pode promover a sua deposição com outras substâncias nas artérias, uma condição que pode evoluir à arteriosclerose e ao ataque cardíaco.

Carboidratos

São as biomoléculas mais amplamente distribuídas na Terra. O carboidrato mais importante é a glicose (monossacarídeo).

Nas plantas, a glicose é sintetizada a partir de dióxido de carbono (CO2) e água, na fotossíntese, e, é armazenada como amido ou é convertida na celulose responsável pela sustentação da planta.

Equação geral da fotossíntese

Os animais podem sintetizar alguns carboidratos a partir de gorduras e proteínas, contudo, a maior parte dos carboidratos animais é oriunda de plantas. Nos seres humanos, o metabolismo da glicose é a principal fonte de suprimento energético. A partir da glicose, uma série de intermediários metabólicos podem ser formados, como os esqueletos carbônicos de aminoácidos, nucleotídeos, ácidos graxos entre outros. Os polímeros de carboidratos (ou glicanos) atuam como elementos estruturais e protetores nas paredes celulares bacterianas e vegetais e também nos tecidos conjuntivos animais, lubrificam as articulações e auxiliam no reconhecimento e adesão intercelular, atuam como sinais que determinam a localização intercelular ou o destino

metabólico destas moléculas híbridas denominadas de ***glicoconjugados*** e desempenham funções de reserva de energia. Esta reserva de energia é armazenada em ligações covalentes fortes tais como:

$$C - C \quad \text{ou} \quad C = O$$

Muitos carboidratos têm a fórmula empírica

$$(CH_2O)_n$$

Alguns apresentam nitrogênio, fósforo ou enxofre.

Carboidratos são poliidroxialdeídos e poliidroxicetonas ou ainda substâncias iônicas que se hidrolisam, que vão dar origem a aldeídos e cetonas poliidroxiladas. Embora, esta definição acentue os grupos funcionais importantes dos carboidratos, não é completamente adequada. Apesar dos carboidratos apresentarem carbonilas (C=O) e hidroxilas (O-H) eles existem preferencialmente na forma cíclica como hemiacetais ou de hemicetais.

CONCEITO

Glicoconjugados

Os carboidratos podem ser divididos em três classes principais de acordo com o número de ligações glicosídicas: os monossacarídeos (não podem ser hidrolisados a formas mais simples), oligossacarídeos (por hidrólise formam de duas a dez unidades de monossacarídeos unidos covalentemente por uma ligação O-glicosídica). e polissacarídeos.

HOMOPOLISSACARÍDEOS		HETEROPOLISSACARÍDEOS	
LINEARES	RAMIFICADOS	DOIS TIPOS DE MONÔMEROS LINEARES	MÚLTIPLOS MONÔMEROS RAMIFICADOS

Diferença entre Homopolissacarídeo e Heteropolissacarídeo

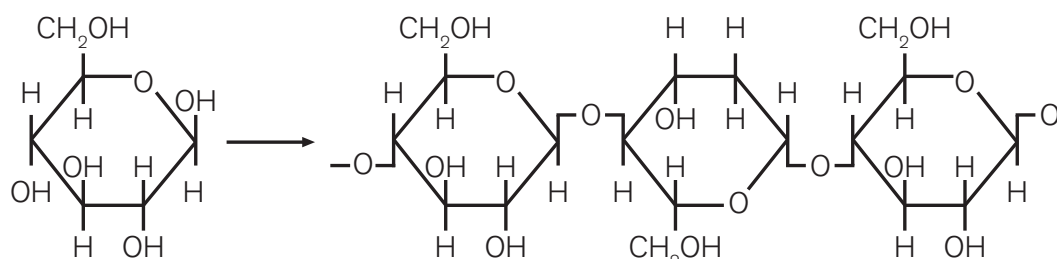
Os **homopolissacarídeos** têm funções de reserva energética (amido e glicogênio) e atuam como elementos estruturais em parede celulares de plantas e em exoesqueletos de animais (celulose e quitina).

Já os **heteropolissacarídeos** são carboidratos estruturais, ou seja, fazem parte do suporte extracelular de todos os organismos vivos. Nos tecidos animais, os heteropolissacarídeos fornecem proteção, suporte, forma para células, tecidos e órgãos.

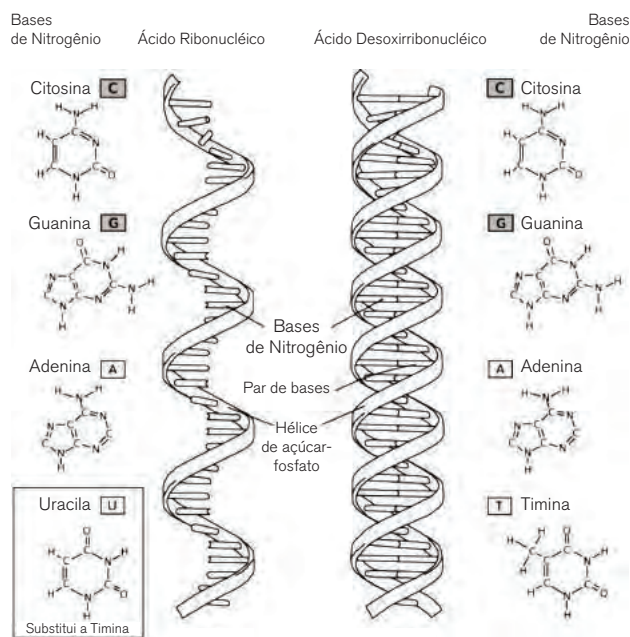
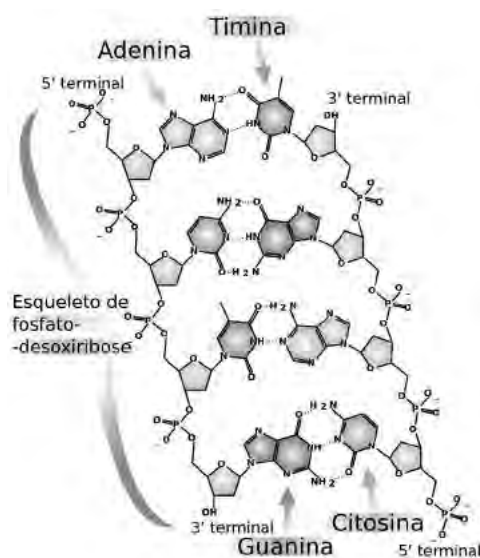
A diferenciação é dada pela unidade monomérica, comprimento e ramificação das cadeias.

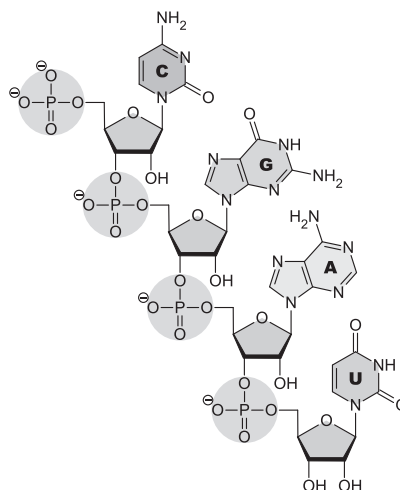
EXEMPLO

Celulose

A celulose é um polímero de cadeia longa com fórmula empírica $(C_6H_{10}O_5)_n$, e formada pela união de moléculas de ß-glicose (uma hexosana) através de ligações ß-1,4-glicosídicas.

Ácidos Nucléicos

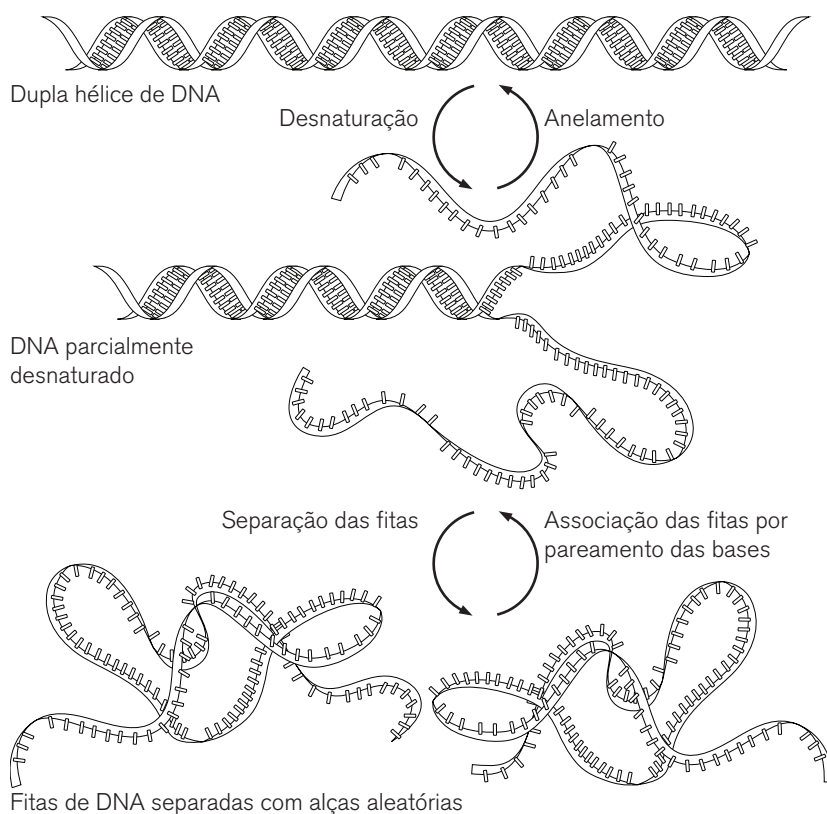
Os ácidos nucléicos são macromoléculas lineares de nucleotídeos unidos por ligação fosfodiéster entre o C3' (carbono 3') de um nucleotídeo e o C5' do nucleotídeo seguinte, especializadas na transmissão, no armazenamento e no uso da informação. São, portanto, macromoléculas formadas por nucleotídeos

Existem dois tipos de ácidos nucleicos: RNA (ácido ribonucléico) e DNA (ácido desoxirribonucléico).

AUTOR

Erwin Chargaff

Erwin Chargaff foi um bioquímico austríaco que emigrou para os Estados Unidos durante a era nazista. Foi catedrático da Columbia University e contribuiu para a descoberta da estrutura de dupla hélice da cadeia de DNA.

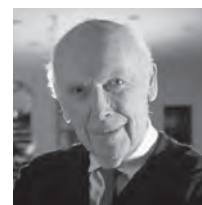
Erwin Chargaff, em 1951, verificou regularidades nas percentagens das bases heterocíclicas obtidas do DNA de várias espécies de organismos vivos através de vários processos. Ele constatou que a porcentagem molar das purinas é igual à das pirimidinas; que a porcentagem da adenina é quase igual à da timina e a porcentagem molar da guanina é quase igual à da citosina não importando qual a espécie estudada, ou seja, a quantidade da purina, adenina, é igual à da pirimidina, timina; assim como, a quantidade da purina guanina é igual à da pirimidina citosina. Esta característica é definida pelas propriedades físico-químicas das moléculas com formas semelhantes se atraírem mutuamente com significante afinidade (interação de Van der Waals), somada à força de atração entre os átomos de cargas opostas (interações eletrostáticas ou ligações de hidrogênio). A lei de Chargaff se baseia na especificidade da interação das bases purínicas e pirimídicas, onde a citosina pareia apenas com a guanina, e a adenina pareia apenas com a timidina ou uracila.

Estrutura da molécula de DNA

Estrutura da molécula de RNA

ATENÇÃO

Hierarquia da Estrutura do DNA

- **Primário –** consiste na sua estrutura covalente e sequencia nucleotídica.
- **Secundário –** corresponde à estrutura proteica de dupla hélice ou duplex do DNA, descrita por *Watson* & *Crick*, em 1953; pode se apresentar na forma circular como nas bactérias, plasmídeos e certos vírus, e pode ser também de fita simples como em alguns tipos de fagos.
- **Terciário –** corresponde ao dobramento complexo de grandes cromossomos no interior da cromatina eucariótica e o nucleóide bacteriano.

Os ácidos nucléicos podem ser ***desnaturados***. Em condições fisiológicas (pH= 7 e temperatura ambiente de 25°C), por exemplo, a estrutura de dupla hélice do DNA é bastante estável. No entanto, se essa estrutura for submetida à temperaturas acima de 80°C ou a pH extremos (menor que 3,0 ou maior que 10,0), a viscosidade do DNA diminui drasticamente indicando que sofreu uma mudança física. A ***renaturação*** da molécula de DNA é um processo rápido em uma etapa, desde que um segmento helicoidal duplo de poucos mais de uma dúzia de resíduos ainda mantenham as duas cadeias unidas.

Estas mudanças físicas ocorrem devido ao rompimento das ligações de hidrogênio entre os pares de bases empilhadas causando o desenrolamento da hélice dupla para formar duas cadeias únicas completamente separadas uma da outra pela molécula inteira ou de parte dela (*desnaturação parcial*).

AUTOR

Watson

James Watson, biólogo molecular e geneticista norte-americano, co-autor do modelo de dupla hélice na estrutura da molécula de DNA junto a Francis Crick.

AUTOR

Crick

Francis Crick, biólogo molecular e biofísico, co-descobridor da estrutura da molécula de DNA junto com James Watson em 1953.

ATENÇÃO

A estrutura de dupla hélice possibilita o entendimento da preservação da informação genética, da transmissão desta informação durante o processo de divisão celular, e também da respectiva transcrição a fim de ser uma cópia fiel para síntese das proteínas.

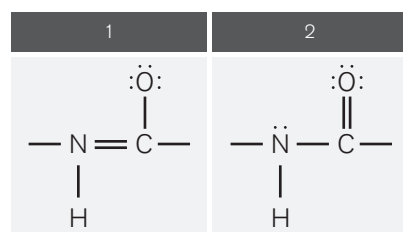
EXEMPLO

No material genético de certos vírus (retrovírus) a informação genética segue do RNA para o DNA, portanto, a direção reversa (de RNA para DNA). Este processo é conhecido por transcrição reversa, na qual a síntese de DNA é dirigida pelo RNA e a enzima responsável pelo processo é denominada transcriptase reversa. Essa enzima tem importante função no ciclo vital dos retrovírus, como por exemplo, no vírus da AIDS.

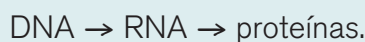
CONCEITO

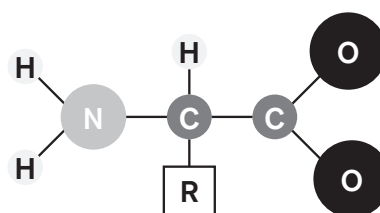
Ligação peptídica

Ligação peptídica ou laço peptídico é uma reação de condensação que resulta na formação de uma ligação amídica (-CO-NH-) entre um grupo amino primário de um aminoácido unido ao grupo carboxílico de um segundo aminoácido.

Característica da ligação: a ligação peptídica é mais curta e mais forte do que uma ligação simples. A ligação peptídica corresponde a uma estrutura intermediária entre uma ligação dupla e simples e que mantêm a propriedade de ambas. Esta estrutura intermediária é conhecida como híbrido de ressonância das estruturas contribuintes (1) e (2).

DNAs ricos em pares C–G têm ponto de fusão maior do que DNAs ricos em pares de A=T. Isto é devido ao fato de o pareamento de bases C–G com três ligações de hidrogênio, necessitar de mais calor para se dissociar do que o pareamento de bases A=T. Logo, o ponto de fusão da molécula de DNA, determinada sob condições fixas de pH e força iônica pode produzir uma estimativa da sua composição de bases heterocíclicas.

A síntese das proteínas é de grande importância para o funcionamento das células, pois as proteínas (na forma de enzimas) catalisam as reações. De acordo com o dogma central da genética molecular, formulado por Crick, a informação genética flui da seguinte forma:

DNA → RNA → proteínas.

Proteínas

As ***proteínas*** são os grupos de biopolímeros mais abundantes nos seres vivos com funções quase infinitas, ocorrendo em todas as células e em todas as partes das células. Embora não exista nenhum sistema de classificação, elas podem ser identificadas com base na sua solubilidade, forma (globulares ou fibrosas), função biológica (enzimas, proteínas de armazenamento, proteínas regulatórias, proteínas estruturais, proteínas protetoras, proteínas de transporte e proteínas contrateis) ou estrutura tridimensional.

CONCEITO

Proteínas

As proteínas são polímeros de α–aminoácidos (α–AA) que formam uma estrutura complexa de massa molecular variando de tamanho, de pequenos a muito grandes, consistindo em dois ou três milhares de resíduo de aminoácidos unidos a seu vizinho por um tipo específico de ligação covalente (*ligação peptídica* ou laço peptídico).

Embora existam mais de 300 AA diferentes na natureza, somente 20 deles constituem as unidades monoméricas nos quais os esqueletos polipeptídeos das proteínas são construídos. Estes são formados por um grupo α- carboxila, um grupo α- amino e um grupo R distinto substituído no carbono α.

Estrutura geral de um aminoácido

O carbono α de todos os AA, exceto a glicina, é assimétrico e, logo podem existir duas formas estereoisoméricas. Somente os estereoisômeros *L* são encontrados nas proteínas. Os AA diferem entre si pelas suas cadeias laterais ou **grupos R.**

Os grupos R podem ser classificados em **cinco** classes principais com base na sua polaridade ou tendências em interagir com a água em pH biológico (próximo ao pH= 7) e carga, são eles:

- **apolares,**
- **alifáticos** (glicina, alanina, prolina, valina, leucina, isoleucina e metionina);
- **aromáticos** (fenilalanina, tirosina e triptofano),
- **polares não carregados** (serina, treonina, cisteína, asparagina e glutamina);
- **carregados positivamente** (lisina, arginina e histidina)
- **carregados negativamente** (aspartato e glutamato).

Os grupos R com carga ácida, básica ou neutra, além de proporcionar propriedades físico-químicas diferentes para cada aminoácido, são também responsáveis por forças estabilizadoras, provenientes de ligações de hidrogênio e eletrostáticas que mantêm as estruturas tridimensionais das proteínas. Todos os cinco tipos de cadeia laterais (grupos R) participam de interações de van der Waals, já que estas dependem da proximidade dos átomos.

Os aminoácidos (AA) são produzidos por todos os organismos vivos.

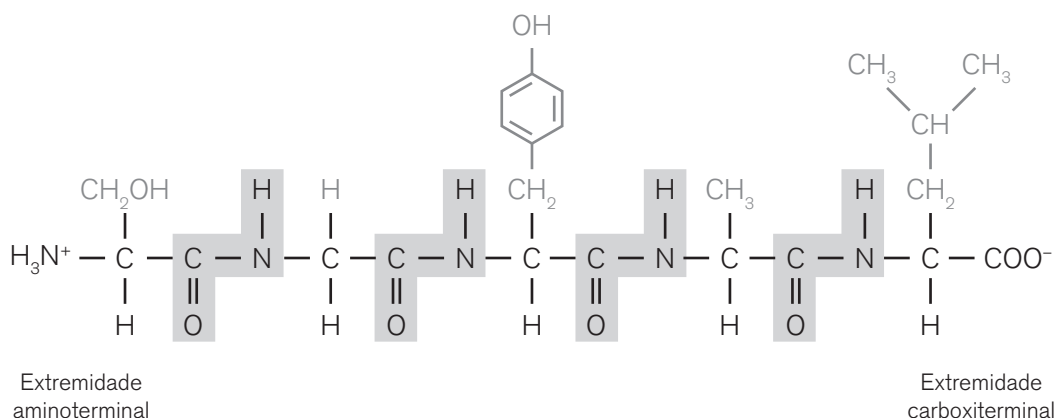
Muitos animais superiores não têm a capacidade de produzir todos os aminoácidos necessários às suas proteínas. Estes aminoácidos são obtidos por estes animais superiores através da dieta alimentar. Estes aminoácidos são denominados aminoácidos essenciais. Para o organismo humano são oito os α–AA essenciais (vanilina, leucina, isoleucina, fenilalanina, triptofano, treonina, metionina e lisina). Como dissemos anteriormente, os AA apresentam pelo menos dois grupos ionizáveis, um grupo carboxila (-COOH), um grupo amina ($-NH_2$). Em solução, estes grupos existem em um equilíbrio protônico, uma carregada positivamente (íon amínio; $-NH_3+$; ou forma catiônica) e outra carregada negativamente (íon carboxilato; $-CO_2-$; ou forma aniônica), denominando íon dipolar ou zwitterion (do alemão "íon híbrido") que predomina em um determinado pH de acordo com a natureza do grupo R. Aminoácidos que apresentam grupos R ionizáveis possuem espécies iônicas adicionais, suas formas iônicas dependem do pH e do pK_a do grupo R.

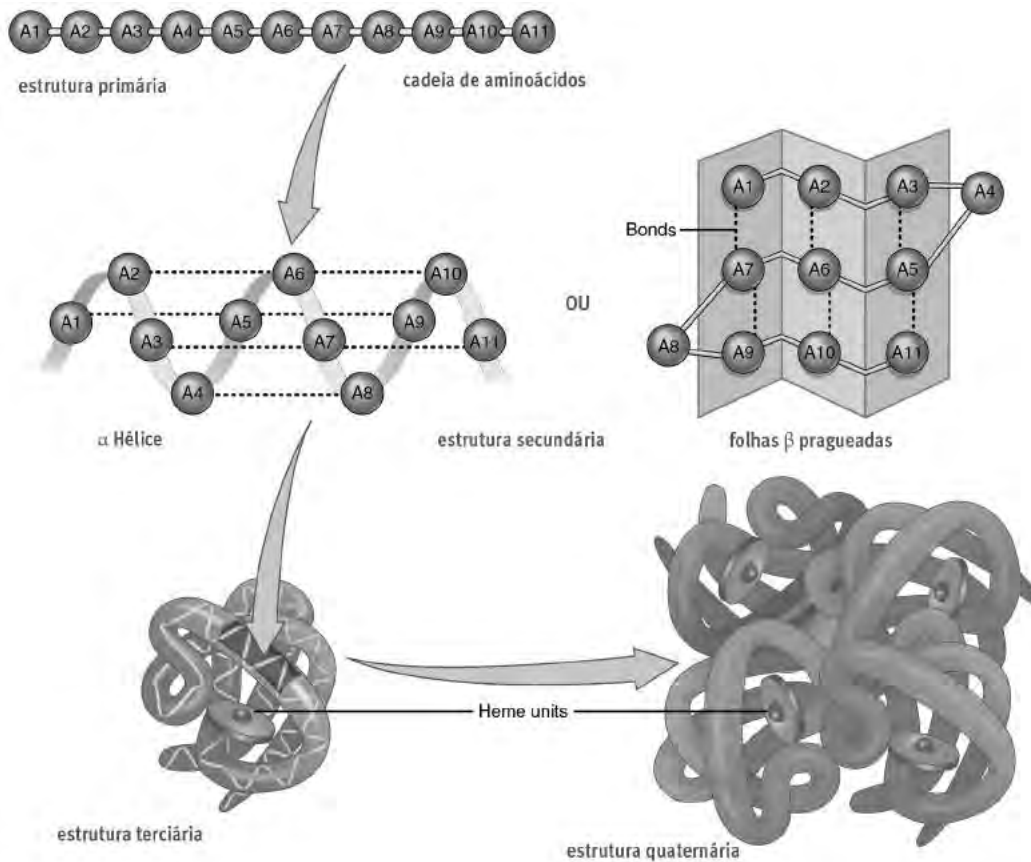
Nos níveis mais elevados da estrutura proteica, o enovelamento e o dobramento local permitem que a molécula atinja a sua forma funcional final. Vale a pena ressaltar que a informação contida na estrutura primária é quase suficiente para determinar as estruturas proteicas subsequentes. A estrutura primária de uma proteína é única e corresponde à sequência linear de aminoácidos na cadeia polipeptídica. Envolve apenas ligações covalentes. A estrutura secundária corresponde às interações entre os resíduos de aminoácidos que formam o esqueleto da cadeia peptídica. Existem alguns tipos de estruturas secundárias, as mais comuns são as hélices α (uma hélice voltada para direita que se repete cada 5,15 a 5,2 angstrons ao longo do eixo helicoidal) e as estruturas β expandidas de folhas pregueadas, paralelas e antiparalelas (o esqueleto da cadeia encontra-se estendido e alinhado, um ao lado do outro, estabilizado por ligações de hidrogênio entre as porções adjacentes da cadeia polipeptídica). A folha β paralela às cadeias adjacentes ocorrem na mesma direção do resíduo amino para o carboxiterminal.

CONCEITO

Noções básicas de peptídeos

Extremidade aminoterminal

Extremidade carboxiterminal

– Os polímeros que apresentam o resíduo de dois, três, poucos (entre três e dez) ou muitos resíduos de aminoácidos são denominados, respectivamente, dipeptídeo, tripeptídeo, oligopeptídeo e polipeptídeo. Os aminoácidos ligados desta maneira (diferentes de quando estão livres) são chamados de resíduos de aminoácidos.
– O oligopeptídeo acima é formado por cinco resíduos de aminonoácidos. A ligação peptídica está sombreada. Os nomes dos peptídeos começam do resíduo aminoterminal. Portanto, o pentapeptídeo é denominado seril-glici-tirosil-alanil-leucina, Ser-Gly-Tyr-Ala-Leu ou SGYAL.
– A extremidade de um polipeptídeo termina em um grupo α-amino livre denominado de resíduo aminoterminal (ou N terminal), que por convenção é colocado à esquerda. O outro resíduo apresenta um grupo carboxila livre chamado de resíduo carboxiterminal. Por convenção, o resíduo carboxiterminal da estrutura dos polipeptídeos e das proteínas é representado à direita.

A folha β antiparalela às cadeias adjacentes seguem direção oposta com os grupos R localizados acima e abaixo do plano da folha. À estrutura terciária corresponde o arranjo tridimensional ou enovelamento de todos os átomos de uma proteína que inclui interações de aminoácidos mais distantes na cadeia principal, em diferentes tipos de estrutura secundária, devido às interações fracas e algumas interações covalentes como ligação de dissulfeto (-S-S-; reação de resíduos de cisteínas em diferentes polipeptídios). Estas ligações dissulfetos conferem uma estabilidade adicional a conformações específicas, tais como as enzimas (ribonucleases) e proteínas estruturais (queratina). Finalmente, as estruturas quartenárias que têm duas ou mais cadeias de polipeptídeos, unidas por forças não covalentes entre os resíduos superficiais, encontrada em proteínas que têm duas ou mais cadeias de polipeptídicas (proteínas oligoméricas). Estas cadeias individuais são denominadas de protômeros ou subunidades. Proteínas formadas por duas ou quatro unidades são denominadas de proteínas diméricas ou tetraméricas, respectivamente. Já os homodímeros, homotetrâmeros entre outros correspondem subunidades idênticas e hétero-oligomêros de subunidades diferentes. Estas unidades ou conjunto de subunidades idênticas podem realizar funções catalíticas (enzimas), outros conjuntos podem realizar o reconhecimento de um ligante ou apresentar um papel regulatório. Em suma, as diferentes orientações espaciais de subunidades atribuem propriedades alteradas sobre estes oligômeros e permitem que proteínas multiméricas desempenhem papéis específicos na regulação intracelular.

Os quatro níveis estruturais das proteínas

Fundamentos evolutivos: origem das células

O universo se formou, de acordo com os dados geológicos mais aceitos atualmente, há cerca de um pouco mais de 14 bilhões de anos e a Terra há cerca de 4,5 bilhões de anos a partir de sedimentos provenientes de material oriundo das estelas, como definimos no item 1 deste capítulo. Foi necessário que a Terra sofresse mudanças que favorecessem o surgimento da vida como conhecemos.

Quais foram às mudanças requeridas na Terra e na atmosfera primitiva que podem ser considerados indispensáveis para o surgimento da vida?

Muitas foram as mudanças. Contudo, os fatores mais impactantes foram: o surgimento da água (na forma líquida), a atmosfera e a produção de aminoácidos.

A água é a espécie química mais abundante na Terra e, como matéria, pode existir em três estados físicos (sólido, líquido e gasoso).

CURIOSIDADE

A atmosfera terrestre também sofreu mudanças significativas. Contudo, não existe um acordo sobre a constituição da atmosfera da época. Acredita-se que esta apresentava-se ora mais ou menos redutora, de acordo com os estudos realizados na composição das nuvens de poeira estelar, meteoritos e de gases retidos em rochas antigas.

AUTOR

Harold Urey

Harold Clayton Urey foi um químico norte-americano professor de diversas instituições como a Universidade da Califórnia e a Universidade de Oxford.

AUTOR

Stanley Miller

Stanley Lloyd Miller foi um químico norte-americano, aluno de Harold Clayton Urey, na Universiade da Califórnia, e coautor do trabalho cohecido como Experiência de Urey-Miller ou "sopa orgânica".

ATENÇÃO

Propriedades especiais da água

- **força coesiva e tensão superficial –** ambas promovidas pela ligações de hidrogênio que se formam e se rompem continuamente em sua molécula;
- **condutividade térmica –** capacidade de conduzir calor;
- **capacidade calorífera –** capacidade de estocar o calor;
- **temperaturas de fusão e ebulição altas –** o que favorece manutenção preferencial no estado líquido;
- **densidade maior que a forma sólida –** sua forma líquida apresenta uma densidade maior que a forma sólida favorecendo que o gelo flutue sobre a água no inverno e promova, durante o descongelamento, circulação dos nutrientes;
- **solvente universal –** maioria das substâncias biológicas são solúveis na água.

As reações biológicas mais importantes são realizadas em meio aquoso e, finalmente, nenhum organismo vivo pode manter-se biologicamente ativo sem ela.

Estas hipóteses cogitam que os elementos mais comuns existentes (hidrogênio, carbono, oxigênio e nitrogênio) estavam inseridos em substâncias simples como metano (CH_4), amônia (NH_3), formaldeído (HCHO), e ácido cianídrico (HCN) promovendo a formação de uma atmosfera redutora oscilante na Terra primitiva. Além destes gases havia também, dióxido de carbono (CO_2), dióxido de enxofre (SO_2) e vapor d' água, oriundos das atividades vulcânicas. O resfriamento do planeta também teria contribuído com a mudança da atmosfera, além da formação dos mares primitivos. Estas moléculas simples começaram a ser depositadas em fissuras nas rochas (que sofriam constantes processos de evaporação e condensação formando uma mistura aquosa, convenientemente chamada de "sopa primordial").

Várias sínteses foram e são realizadas em laboratórios de Química utilizando as condições pré-bióticas pressupostas pelos pesquisadores atuais para o ambiente primitivo. Uma destas sínteses, e a mais famosa delas, foi realizada pelos cientistas ***Harold Urey*** e ***Stanley Miller*** (Prêmio Nobel de Química de1934).

Eles conseguiram sintetizar artificialmente aminoácidos (α–alanina, β–alanina e α-aminoácido-*n*-butírico,) utilizando as mesmas condições descritas por Oparin-Haldane. A teoria heteretrófica proposta por Oparin-Haldane propunha que moléculas simples formadas, inicialmente, na atmosfera primitiva da Terra, teriam formado moléculas cada vez mais complexas (aminoácidos, açúcares, lipídeos etc) e, estas teriam se acumulado nos oceanos primitivos e reagido entre si formando os biopolímeros. Depois de bilhões de anos, finalmente, estas reagiriam entre si formando estruturas coacervadas também denominadas de protobiontes, microsferas, protocélulas, micelas ou ainda lipossomos. Coacervados não são considerados organismos vivos. Após bilhões de anos, no interior destas es-

truturas, as complexidades das reações teriam evoluído até que estes coacervados passassem a ser considerados seres vivos. Apesar do experimento revolucionário de Miller, esta síntese foi alvo de duras críticas da sociedade química atual porque não levou em conta a atmosfera oxidante da Terra primitiva (considerada pela maioria dos pesquisadores) que tornaria a produção de aminoácidos muito pequena, e a fonte de energia mais aceita para a realização destas reações deveria ser a radiação ultravioleta, ao invés das descargas elétricas, devido a ausência de uma camada protetora de ozônio. Além disso, os aminoácidos produzidos por Harold Urey e Stanley Miller correspondem a uma mistura racêmica (somente os α–AA são utilizados na produção das biomoléculas) e apresentaram baixo rendimento nas reações. Apesar das controvérsias, o experimento foi pioneiro e contribui para futuras descobertas na química pré-biótica, fomentaram discussões sobre a origem heterotrófica (química pré-biótica complexa e metabolismo simples) e a origem autotrófica (ambiente químico simples e metabolismo complexo, proposto por Günter Wächtershäuser em 1985).

Estas controvérsias estão longe de serem resolvidas, no entanto sevem para mostrar o grau de dificuldade envolvido na questão da origem da vida. Os grandes temas de discussão, na comunidade química atual, envolvem, principalmente, a busca pelo entendimento sobre a formação das macromoléculas e suas interações no organismo vivo, a síntese dos α–AA, a síntese e o mecanismo de agregação das moléculas energéticas baseadas em fósforo (ATP, ADP, GDP, RNA entre outras).

A descoberta, no início da década de 80, de que moléculas de RNA também podem desempenhar o papel de catalisadores, levou pesquisadores a proporem que o RNA provavelmente, teria tido papel importante durante a evolução pré- biótica. Hoje, já é consenso da comunidade científica que o RNA não poderia ter sobrevivido nas condições ambientais pré-bióticas, devido à indisponibilidade de fosfatos solúveis que inviabilizaria a síntese de nucleotídeos (e caso fossem produzidos suas concentrações seriam mínimas inviabilizando a síntese de biopolímeros) e, finalmente, a presença de impurezas na Terra primitiva não possibilitariam as reações dos RNAs. Contudo, alguns pesquisadores ainda não chegaram a um acordo sobre os itens descritos acima a respeito do papel do RNA no meio pré-biótico, gerando várias publicações e novas hipóteses.

A evolução da vida, em nosso planeta, pode ser resgatada durante a análise geoquímica das rochas antigas, meteoritos e de fósseis. Apesar das divergências e dúvidas quanto à origem da vida é razoável supor que as primeiras células primitivas evoluíram de moléculas orgânicas dispostas em organizações esféricas (coacervados) feitas de um agregado proteico (RNA, DNA e/ ou proteínas?), circundadas por uma dupla camada de lipídeos limitando o meio interno do externo.

TEMPO (10^6 ANOS)	EVIDÊNCIA	% DE OXIGÊNIO NA ATMOSFERA
400	Peixes grandes, primeiras plantas terrestres.	100
550	Explosão da fauna cambriana.	10
1400	Primeiras células eucariontes; células com diâmetro maior; evidência de mitoses.	>1
2000	Cianofíceas tolerantes ao oxigênio com carapaça de proteção; fotossíntese.	1
2800	Cadeias de filamentos – organismos que se parecem com as cianofíceas atuais; predominância da espécie Fe(II) em rocha, fermentação.	<0,01
3800	Rochas com empobrecimento de 13C – possível atividade biológica.	<0,01

CONCEITO

Células unicelulares autotróficas

A célula autotrófica, em termos de nutrição, é autosuficiente, sendo fotossintetizante ou quimiossintetizante. Células vegetais, das algas e de alguns tipos de bactérias são exemplos desse tipo de célula.

Células primitivas surgiram em um ambiente fortemente redutor. Elas eram unicelulares, procariontes, anaeróbicas e quiomiotróficas, isto é, obtinham sua energia pela oxidação de compostos inorgânicos abundantes na superfície terrestre (por exemplo: sulfeto ferroso e o carbonato ferroso).

EXEMPLO

Composto químico formado pela reação de ferro e enxofre.

Siderita, mineral composto de carbonato de ferro.

Provavelmente, as substâncias orgânicas teriam surgido de ações não biológicas provenientes das reações das substâncias presentes na atmosfera primitiva, juntamente, com as condições climáticas da Terra primitiva (radiação ultravioleta, calor dos vulcões, do sol ou fendas termais). Admite-se que as primeiras ***células unicelulares autotróficas*** surgiram da evolução destas células primitivas procariontes.

Estas células primitivas evoluíram gradativamente na capacidade de fixar CO_2 e utilizar a energia radiante do sol para a produção das próprias moléculas nutritivas. Antes ou durante a evolução dos seres unicelulares para os organismos autótrofos um evento evolutivo possibilitou o surgimento destes novos organismos unicelulares: os pigmentos capazes de promover a captação da energia solar, fixação do CO_2 e a produção de moléculas mais complexas. Inicialmente, os primeiros doadores de elétrons utilizados por organismos fotossintetizantes durante a rota fotossintética foi possivelmente o H_2S. Estes eliminavam, como resíduo, o enxofre elementar (So) ou sulfato (SO_4^{-2}). Este novo tipo celular era bastante semelhante às algas azuis ou cianofíceas. Com o surgimento da capacidade enzimática as células começaram a utilizar a H_2O como doador de elétrons eliminando o O_2 como subproduto. O oxigênio (O_2) levou aproximadamente 1,5 bilhão de anos para atingir a concentração dos 21% atuais.

O oxigênio é um agente fortemente oxidante e tóxico para as células anaeróbicas. As células que existiam, no meio ambiente primitivo, não estavam adaptadas para sobreviver a um ambiente rico em oxigênio.

Por que surgiram células fotossintéticas?

A fotossíntese fornece 16 vezes mais energia do que a fermentação. Portanto, a liberação de oxigênio para o meio ambiente possibilitou a seleção e a adaptação bioquímica dos fermentadores existentes, a fuga dos organismos anaeróbicos deste novo ambiente rico em O_2 e a colonização de novos ambientes sem O_2, a morte dos organismos inaptos (o que Lynn Margulis e Dorian Sagan denominaram de "holocausto do oxigênio"), o surgimento de organismos eucariontes e a formação da camada de ozônio (O_3) devido ao rompimento da molécula de O_2 sob a ação da radiação ultravioleta.

Mudanças que contribuíram para a evolução das células eucarióticas:

1 – desenvolvimento das formas tridimensionais, divisão correta entre as células filhas e a produção de mais moléculas de DNA;

2 – interiorização da membrana plasmática, possibilitando a formação de vários compartimentos intracelulares (retículo endoplasmático, endossomos, lisossomos complexo de Golgi entre outros), cada uma com sua composição enzimática e atividades funcionais bastantes específicas, na rapidez do processamento dos substratos pelos componentes enzimáticos, sem que haja transferências, promovendo o rendimento dos processos metabólico;

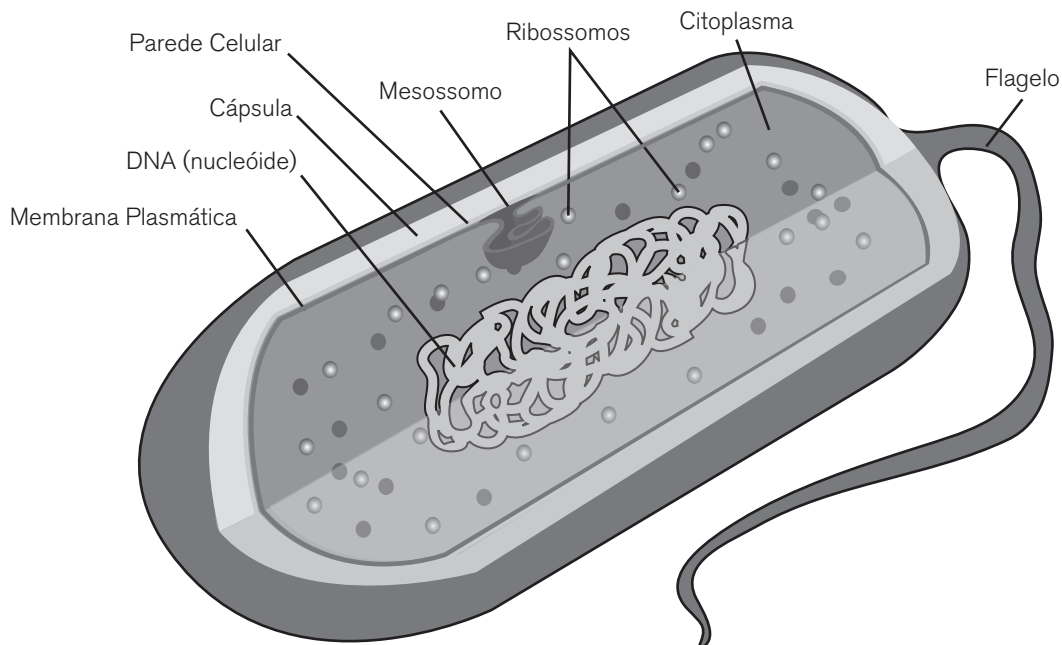
3 – a fagocitose de bactérias aeróbicas e bactérias fotossintéticas que escaparam dos processos digestivos intracelulares formando associações endossimbióticas permanentes.

Algumas destas cianobactérias evoluíram para os plastídeos como os cloroplatos e outras bactérias aeróbicas evoluíram para as mitocôndrias (Teoria Endossimbiótica). As principais evidências desta teoria, criada pela bióloga americana ***Lynn Margulis***, são: as mitocôndrias e os cloroplastos apresentam DNA circular, similar aos das bactérias; apresentam duas membranas, uma interna semelhante às membranas bacterianas e uma externa que assemelha-se a membranas das células eucariontes hospedeiras, e a replicação destas organelas ocorrem por fissão binária, como é comum nas bactérias. Com estes avanços, finalmente, havia chegado o momento das células eucarióticas (autotróficos e heterotróficos), nucleadas, com respiração aeróbica e produtoras de O2 (autotróficas) dominarem o ambiente primitivo.

AUTOR

Lynn Margulis

Lynn Margulis foi uma bióloga e professora na Universidade de Massachusetts.

Célula Procarionte

A célula procarionte é um organismo unicelular que não apresenta seu material genético delimitado por membrana.

Célula Eucarionte

01. Nucléolo
02. Núcleo celular
03. Ribossomas
04. Vesícula
05. Retículo endoplasmático rugoso
06. Complexo de Golgi
07. Citoesqueleto
08. Retículo endoplasmático liso
09. Mitocôndria
10. Vacúolo
11. Citoplasma (composto de Citosol)
12. Lisossomo
13. Centrossoma
14. Membrana plasmática

Células eucarióticas são aquelas que possuem membrana nuclear individualizada e várias organelas distintas, podendo ser animais ou vegetais.

As células eucarióticas tornaram-se cada vez mais complexas. A agregação destes indivíduos levou a junções permanentes tornando-os especializados e, posteriormente, diferenciados. Portanto, esta especialização das células culminou com a formação para organismos multicelulares modernos, os quais apresentam centenas ou milhares de células especializadas (que formam os tecidos e os órgãos), responsáveis pela manutenção do organismo inteiro.

BIBLIOGRAFIA

BERNER, R.A.; LASAGA, A.C. 1989. *Modelling the Geochemical Carbon Cycle.* Scientific American, 260(3): 74-81.

REEVES, H.; FOWLER, W.A.; HOYLE, F. 1970. *Galactic Cosmic Ray Origin of Li, Be and B in Stars.* Nature, 226(23): 727-729.

VARELA, M.E. 2007. *A química do Cosmo.* Segredo revelado pelos meteoritos. 2007. Ciência Hoje, 40 (237): 18-23

RAMPELOTTO, P. H. 2012. *A química da vida como nós não conhecemos.* Química Nova, 35(8): 1619-1627.

NELSON, D. L. e COX, M. M. *Princípios de Bioquímica de Lehninger.* 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. 1274 p.

MURTA, M. M. & LOPES, F. A. *Química Pré-Biótica:* Sobre a Origem das Moléculas Orgânicas na Terra. 2005. Química Nova na escola 22, 26-30

JARDIM, W.F. *A Evolução da Atmosfera Terrestre* 2001. Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola. 1, 5-8.

GRASSI, M.T. *Águas no planeta Terra.* 2001. Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola. 1, 31-40.

LUISI, P. L. *About various definitions of life.* Orig. Life Evolut. Biosph. 1998, 28, 613-622.

WÄCHTERSHÄUSER, G. *Before enzymes and templates: theory of surface metabolism.* 1988. Microbiol Rev. 52(4):452–484.

CAIRNS-SMITH, A. G. *Seven clues to the origin of life,* Cambridge University Press: UK, 1985; Cairns-Smith, A. G.; *Genetic takeover and the mineral origin of life,* Cambridge University Press, UK, 1982.

ORGEL L E. *Some consequences of the RNA world hypothesis.* 2003. Origins Life Evol. Biosph. 33, 211–218.

ZAIA, D.A.M. & ZAIA, C.T.B.V. *Adsorção de Aminoácidos sobre minerais e a origem da vida.* 2006. Quim. Nova, 29(4): 786-789.

ZAIA, D.A.M. & ZAIA, C.T.B.V. *Algumas controvérsias sobre a origem da vida.* 2008. Quim. Nova, 31(6): 1599-1602.

FORTERRE, P. & GRIBALDO, S. *The origin of modern terrestrial life.* 2007. HFSP Journal 1(3): 156–168.

IMAGENS DO CAPÍTULO

2

Membrana Celular

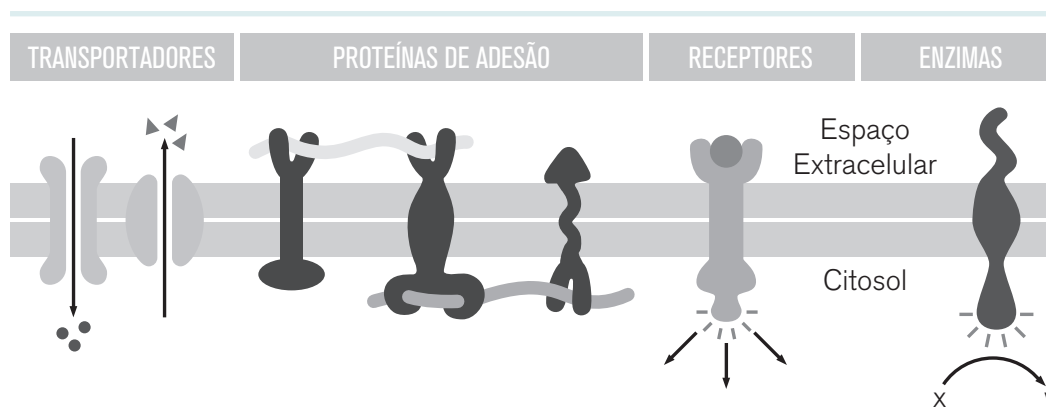
ANNA CRISTINA NEVES BORGES

2 Membrana Celular

Definição

Membranas celulares são estruturas fluidas e delgadas que variam de 6 a 10 nm de espessura e que delimitam e compartimentam diversas organelas celulares (incluindo o núcleo, o sistema de endomembranas, os cloroplastos e as mitocôndrias), bem como a própria célula.

Eletromicrografia de células observadas ao microscópio eletrônico de transmissão (MET), destacando a membrana celular. A dupla camada da membrana de cada célula pode ser identificada como uma região clara bordeada por duas regiões escuras.

Este envoltório não representa apenas uma barreira inerte, mas possui também, inúmeras funções enumeradas abaixo, e esquematizadas a seguir:

! ATENÇÃO

- Responsável pela constância do meio intracelular e do interior de organelas;
- Participa do processo de reconhecimento celular e da adesão entre células e elementos da matriz extracelular através de proteínas e glicoproteínas específicas;
- Participa do mecanismo de sinalização celular, devido à presença de receptores para fatores de crescimento, hormônios, dentre outras moléculas sinalizadoras, além da presença de alguns elementos do sistema de transdução de sinal (ex.: proteínas G e receptores com função de quinases);
- Funciona como suporte para enzimas pertencentes a uma mesma via metabólica ou cadeia transportadora de elétrons permitindo uma melhor dinâmica sequencial do processo;
- Promove o controle da entrada e saída de moléculas e íons na célula, bem como, em suas organelas,

através da propriedade de permeabilidade seletiva conferida pela estrutura básica da membrana e por proteínas transportadoras;

- Participa dos processos de endocitose, transcitose e exocitose (já visto posteriormente neste capítulo), além de promover processos de deslocamentos de compostos pelo citoplasma e envio de moléculas de uma organela para outra, através da formação e fusão de vesículas contendo o elemento a ser transportado;
- Participa de processos de comunicações entre as células;
- Funciona como isolante elétrico na bainha de mielina;
- Possui outras funções específicas particulares de algumas membranas.

Esquema gráfico da membrana citoplasmática celular ilustrando componentes proteicos que executam diversas funções na membrana celular, tais como: transportadores de solutos através da membrana, elementos que participam da ligação de uma célula com elementos citosólicos ou extracelulares, receptores de sinais e proteínas de membrana com função enzimática.

Composição e estrutura das membranas

Apesar das diferenças nas funções desempenhadas pelas membranas citoplasmáticas que envolvem diferentes tipos celulares, assim como, entre as membranas de diversas organelas, podemos observar que todas as membranas compartilham, invariavelmente, a mesma composição e estrutura básica.

EXEMPLO

As membranas celulares são compostas basicamente de uma bicamada lipídica, associada a proteínas e carboidratos.

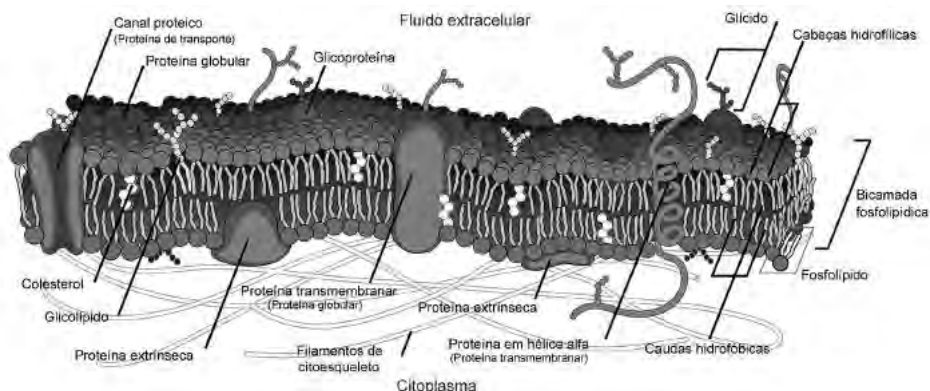
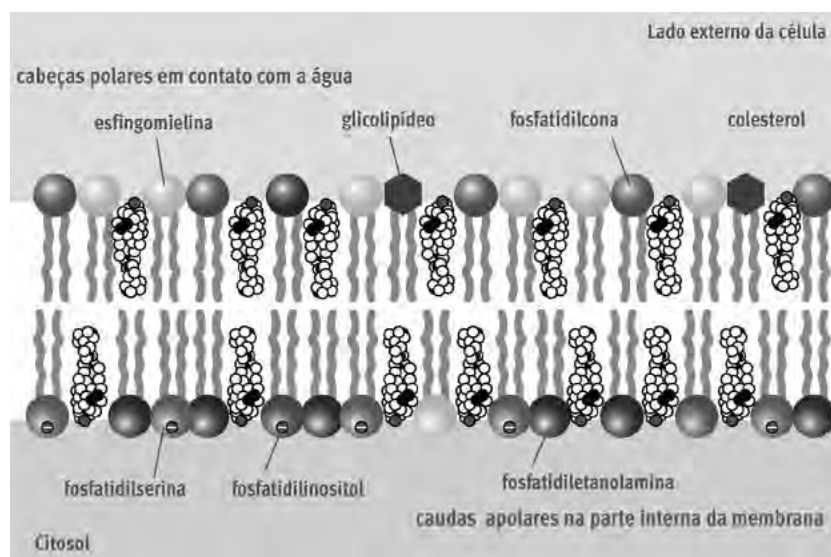
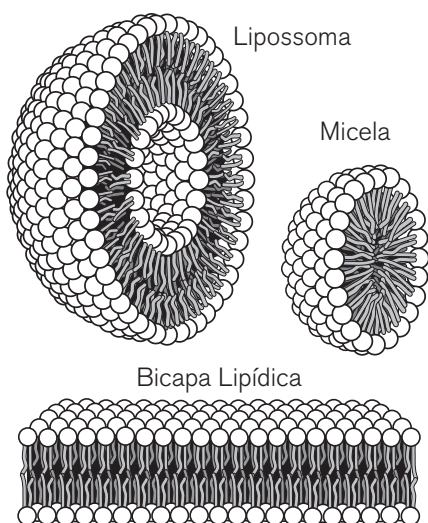



Diagrama de uma membrana plasmática

CURIOSIDADE

Algumas membranas possuem quase 80% de lipídios, como a membranas das células da bainha de mielina, enquanto a membrana interna da mitocôndria é constituída de 80% de proteínas e possui uma quantidade de colesterol bem menor que a membrana citoplasmática. Além disso, algumas membranas possuem elementos específicos como a cardiolipina (difosfatidilglicerol), típica da membrana de mitocôndrias, e o dolicol, um lipídio que está presente na membrana do retículo endoplasmático.
O colesterol não está presente nas membranas das células vegetais, onde podemos encontrar os fitoesteróis (outro tipo de esteroide). Por outro lado, em procariontes raramente encontramos esteróis na membrana.

CONCEITO

Mosaico Fluido

Mosaico Fluido é como é chamada a dupla camada lipídica nas membranas biológicas; uma estrutura fluida, dinâmica, onde estão distribuídas moléculas proteicas.

Em geral, a fração lipídica corresponde a 50%, do mesmo modo que a fração proteica, enquanto os carboidratos, menos numerosos, se encontram associados a proteínas ou aos lipídios (como glicoproteínas ou glicolipídios, respectivamente). Entretanto, existem diferenças quantitativas e qualitativas na composição das membranas que envolvem os diferentes tipos celulares ou diferentes organelas.

A disposição dos elementos na membrana é assimétrica e permite o deslocamento principalmente da fração lipídica, motivo pelo qual as membranas são consideradas ***mosaicos fluidos***. De fato, como será discutido posteriormente neste capítulo, existem alguns tipos de proteínas localizadas na superfície voltadas para o meio extracelular (ectoproteínas), enquanto outras estão localizadas na camada em contato com o citoplasma (endoproteínas). Do mesmo modo, a disposição dos diferentes tipos de lipídios na bicamada é assimétrica e a fração de carboidratos está preferencialmente exposta no meio extracelular, assim como as proteoglicanas.

Esquema demonstrativo da assimetria da bicamada lipídica da membrana. Note que a fosfatidilserina (com carga negativa), a fosfatidiletanolamina e o fosfatidilinositol são mais frequentes na face da membrana em contato com o citosol, enquanto o glicolipídio, a fosfatidilcolina e a esfingomielina são mais frequentes na superfície da membrana em contato com o lado externo da célula (meio extracelular).

A maioria dos lipídios que compõem a bicamada lipídica (glicerofosfolipídios, esfingofosfolipídios e glicolipídios) possuem cabeça polar ou hidrofílica e caudas apolares ou hidrofóbicas (compostas de longas cadeias de hidrocarboneto), sendo assim, anfipáticos. Esta característica é essencial para formação e manutenção da bicamada lipídica, uma vez que, as caudas apolares tendem a se localizar no interior da bicamada, enquanto as cabeças polares ficam expostas ao meio aquoso citoplasmático ou extracelular .

Fosfolípidos organizados em lipossomas, micelas e bicapa lipídica.

No esquema anterior, vemos o comparativo da organização da bicamada fosfolipídica da membrana celular e de lipossomas, bem como da monocamada de micelas composta de lipídios que possuem uma única cauda de hidrocarboneto. Note que os lipossomas são estruturas compostas por uma bicamada lipídica fechada com os ácidos graxos dos fosfolipídios (caudas hidrofóbicas destacadas em amarelo) e estão voltados para o interior da bicamada (assim como nas membranas celulares), enquanto as micelas são vesículas compostas de uma única monocamada fechada, dispondo os ácidos graxos no interior da vesícula. Além disso, em todos os casos, as cabeças polares (hidrofílicas) dos lipídios estão expostas ao meio aquoso.

Vale dizer que esta organização também pode ser observada em ***lipossomas***, estruturas compostas por uma bicamada lipídica fechada, com diâmetro de 0,25 até 1 µm, que se formam quando fosfolipídios são adicionados a soluções aquosas. Uma estrutura distinta que se forma quando lipídios que possuem uma única cauda de hidrocarboneto são expostos a condições semelhantes são as ***micelas***, vesículas de diâmetro menor (geralmente de 0,001 até 0,1 µm de diâmetro) compostas de uma única monocamada fechada, com a cabeça exposta para a fase aquosa e as caudas voltadas para o interior da vesícula.

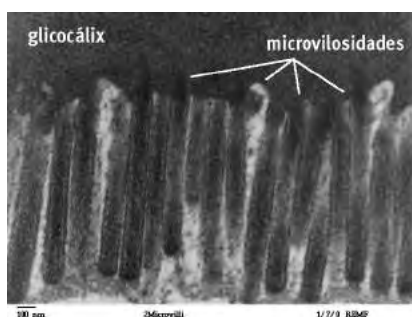
A bicamada lipídica das membranas é composta de diferentes grupos de lipídios anfipáticos, os fosfolipídios (glicerofosfosfolípideos e esfingofosfolipídios), os glicolipídios (cerebrosídeos e gangliosídeos) e o colesterol. Embora a estrutura de cada tipo de lipídio tenha sido discutida previamente no Cap. 1, vale lembrar que os glicerofosfolipídios, principais componentes da membrana, possuem longas cadeias hidrofóbicas de hidrocarbonetos dos ácidos graxos, associadas com uma parte hidrofílica, composta de glicerol e um álcool (serina, colina, etanolamina ou inositol). Desta forma, dependendo do álcool associado, os glicerofosfolipídios podem ser chamados de fosfatidilserina, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina ou fosfatidilinositol, cujas disposições na membrana ocorrem de forma assimétrica. A fosfatidilserina, a fosfatidiletanolamina e o fosfatidilinositol são predominantes na face da membrana voltada para o citosol, enquanto a fosfatidilcolina está em maior concentração na face da membrana voltada para o meio extracelular. Vale mencionar, também, que a assimetria na disposição de fosfolipídios carregados

? CURIOSIDADE

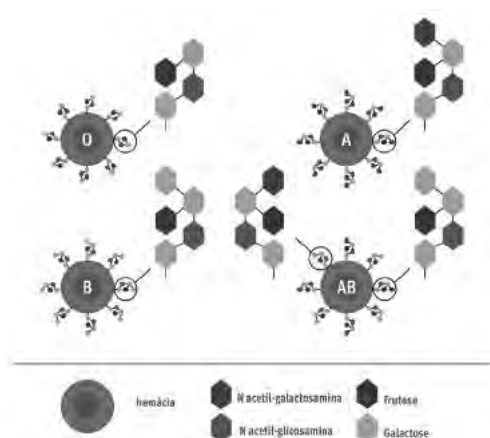
Lipossomas

Lipossomas são utilizados em técnicas para introduzir DNA recombinante em células animais. Neste caso, após provocar a formação de lipossomas em meio aquoso contendo o DNA recombinante, os lipossomas produzidos terão o DNA incorporado ao seu interior. Assim, ao promover a fusão destes lipossomas (contendo o DNA recombinante) com as células, o DNA recombinante pode ser transferido para o interior das células. Do mesmo modo, a indústria farmacêutica e de cosmética também propõe a utilização dos sistemas de lipossomas, como veículo para introdução de outros compostos no interior da célula, assim como, fármacos e cosméticos.

? CURIOSIDADE

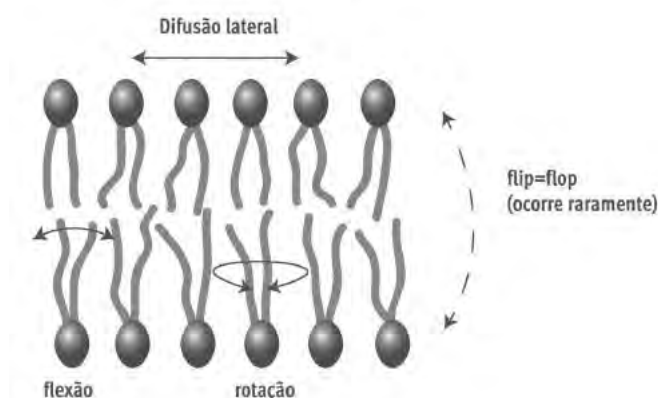
Micelas

Baseado no conceito de organização de fosfolipídios em solução aquosa é possível construir membranas artificiais, compostas apenas da bicamada lipídica. Estas membranas artificiais favorecem o estudo permeabilidade da membrana celular e das propriedades fisioquímicas dos elementos na membrana.

(como a fosfatidilserina, que é carregada negativamente) contribui para diferença de cargas entre as duas faces da membrana, em que a face voltada para o citosol é carregada negativamente, enquanto a face voltada para o meio extracelular possui carga positiva.

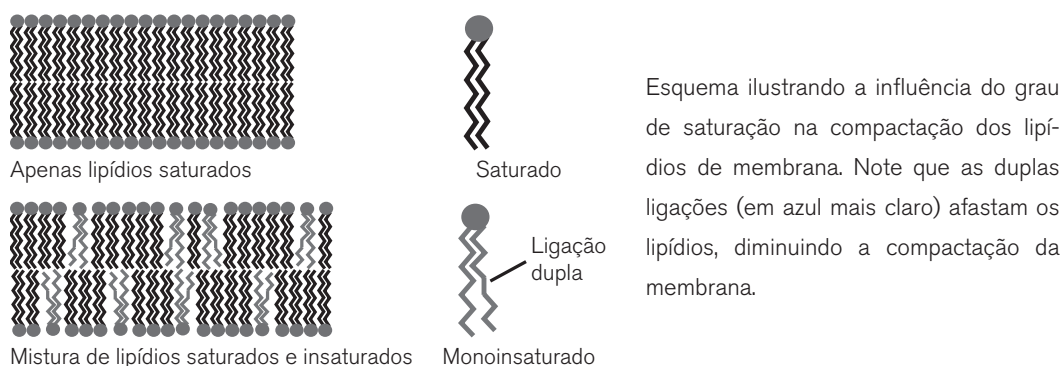
Outro tipo de fosfolipídio, o esfingofosfolipídio, possui longas cadeias hidrofóbicas de hidrocarbonetos, associadas com uma parte hidrofílica, composta de serina e um álcool (colina), sendo denominado esfingomielina. Este lipídio apresenta-se em grande quantidade na face da bicamada voltada para o meio extracelular de células formadoras da bainha de mielina, promovendo o isolamento elétrico dos axônios. Por sua vez, os cerebrosídeos e os gangliosídeos, os quais possuem em sua composição um resíduo (galactose ou glicose) ou vários resíduos de monossacarídeos, respectivamente, encontram-se na face externa da membrana citoplasmática ou na face da membrana de organelas voltada para o lúmen das mesmas, do mesmo modo que a fração glicídica de glicoproteínas. Nestes locais, estes compostos desempenham importantes funções como:

- Reconhecimento celular;
- Adesão celular;
- Proteção química contra enzimas hidrolíticas e outros compostos proteção mecânica;
- Determinação do tipo sanguíneo (participação da identidade de eritrócitos), contribuem para o isolamento elétrico de neurônios, atraição de íons (principalmente cátions) e água.

Na face da membrana citoplasmática voltada para o meio extracelular, podemos observar uma grande quantidade da fração glicídica da membrana, chamada glicocálix ou glicocálice, que possui muitas das funções descritas anteriormente.

Eletromicrografia destacando a presença do glicocálix (glicocálice) e das microvilosidades na membrana citoplasmática de células do epitélio intestinal.

EXEMPLO

Representação gráfica da determinação do tipo sanguíneo no sistema AB0, promovida por diferenças no monossacarídeo terminal.

Esquema dos oligossacarídeos determinantes do tipo sanguíneo AB0, presentes em eritrócitos. Note que a diferença é determinada pela presença N-Aceligalactosamina no tipo A, Galactose no tipo B e a ausência de monossacarídeo nesta posição no tipo 0.

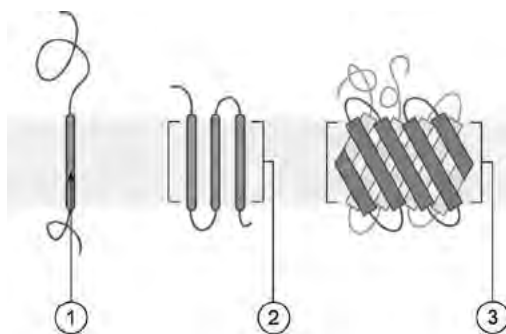
Finalmente, o colesterol, outro tipo de lipídio anfipático que compõe as membranas, um pouco menos numeroso que os fosfolipídios de membrana, organiza-se entre os fosfolipídios, com seu grupamento hidroxila do C3 do núcleo cíclico orientado para a solução aquosa do citosol ou do meio extracelular. Este grupo de lipídio possui grande importância para a manutenção da fluidez da membrana.

Fluidez da membrana

A fluidez da membrana está relacionada com os movimentos das moléculas constituintes, principalmente da fração fosfolipídica. Os fosfolipídios de membrana podem mover-se por difusão lateral, deslocando-se ao longo da superfície de uma das camadas da membrana, rotacionalmente em volta do próprio eixo, promover flexão dos ácidos graxos, ou até, mais raramente, passar de uma camada para outra, em um movimento chamado flip-flop (semelhante a uma cambalhota).

Tipos de movimentos executados pelos fosfolipídios de membrana.

Esses deslocamentos podem ser influenciados pela temperatura, tamanho e grau de saturação dos ácidos graxos, bem como pela porcentagem de colesterol nas membranas. De fato, as duplas ou triplas ligações presentes nos ácidos graxos insaturados promovem angulações na molécula que levam ao maior afastamento entre os lipídios de membrana e, consequente, a um menor grau de compactação, o que facilita seu movimento.

Esquema ilustrando a influência do grau de saturação na compactação dos lipídios de membrana. Note que as duplas ligações (em azul mais claro) afastam os lipídios, diminuindo a compactação da membrana.

Do mesmo modo, ácidos graxos de cadeia curta também facilitam o movimento das moléculas, aumentando a fluidez. Ao contrário, as moléculas de colesterol e ácidos graxos

saturados promovem maior grau de compactação lipídica na membrana, dificultando o movimento e, assim, diminuindo a fluidez.

ATENÇÃO

Dessa forma, apesar do aumento na temperatura promover maior movimento e, consequente, aumento na fluidez da membrana, algumas células são capazes de diminuir essa fluidez, através do incremento no número de ácidos graxos com longas cadeias saturadas e aumento da concentração de colesterol, facilitando que os ácidos graxos possam se agrupar de forma mais compacta, inibindo o movimento das moléculas. Enquanto, em baixas temperaturas, para aumentar a fluidez da membrana é necessário aumentar o número de ácidos graxos de cadeia curta, insaturados, bem como diminuir a concentração de colesterol.

As proteínas que compõem as membranas também podem girar em torno do seu próprio eixo ou se deslocar lateralmente na superfície da membrana, apesar de possuírem um movimento mais restrito que os lipídios.

Tal fato ocorre devido ao maior tamanho das proteínas e também porque muitas proteínas estão associadas a lipídios da bicamada, ao citoesqueleto, a proteínas de outras células, ou ainda, a elementos da matriz extracelular. Desta forma, além de possuírem distribuição assimétrica entre as camadas da bicamada lipídica, as proteínas também podem se localizar em extremidades distintas da célula. Nestes casos, vale ressaltar que a presença de alguns tipos de proteínas apenas em um dos polos da célula, ou em uma das faces da bicamada é, muitas vezes, crucial para o desempenho de sua função e para a fisiologia da célula (exemplificado mais à frente no tópico transporte ativo secundário). Algumas proteínas localizam-se na periferia da membrana (mais frequentemente na face extracelular), sendo ricas em aminoácidos hidrofílicos, e também nas superfícies expostas ao meio aquoso citoplasmático ou citosólico. Estas proteínas são chamadas de periféricas e encontram-se presas a proteínas integrais ou fosfolipídios da membrana através de ligações fracas, facilmente desfeitas pelo tratamento com soluções salinas. Por outro lado, a ligação das demais proteínas de membrana exige tratamentos mais fortes para que sejam extraídas da membrana, com o uso de detergentes, calor e alguns solventes. Neste caso, as proteínas integrais transmembrana atravessam totalmente a bicamada lipídica da membrana uma vez (**monopasso**) ou mais vezes, formando alças expostas em uma das faces da membrana (**multipasso**). Já as proteínas integrais parciais ficam expostas somente em uma das faces da membrana e atravessam apenas uma das camadas da membrana e as proteínas de ancoragem ligam-se na membrana geralmente por ligações covalentes a ácidos graxos de lipídeos na face citosólica ou ao fosfatidilinositol na face extracelular, mas não atravessam a membrana, localizando-se na periferia da membrana.

Diferentes tipos de proteínas transmembranares:
1 – Unipasso
2 – Multipasso em alfa-hélice
3 – Multipasso em folha-beta

A forma com que cada tipo de proteína se acomoda na membrana é fundamental para o desempenho de sua função como receptores de sinais, transportadoras de moléculas e íons para dentro ou fora da célula, elementos do sistema de adesão entre as células e com elementos da matriz extracelular, ligação da membrana com elementos do citoesqueleto (como os filamentos de actina e microtúbulos), elementos do sistema de reconhecimento celular, elementos das cadeias transportadoras de elétrons, dentre outras funções desempenhadas pelas proteínas de membrana.

ATENÇÃO

As regiões das proteínas integrais em contato com as caudas dos lipídios de membrana geralmente exibem uma estrutura secundária em α-hélice, ricas em aminoácidos hidrofóbicos. Ao contrário, as regiões expostas ao meio aquoso apresentam uma proporção maior de resíduos hidrofílicos.
Além disso, quando as proteínas de membrana se associam para formar um "túnel", com abertura nas duas faces da membrana para permitir a passagem de elementos hidrofílicos, podemos notar uma prevalência de aminoácidos hidrofílicos na superfície interna do túnel. Contudo, a região destas proteínas exposta aos ácidos graxos dos lipídios de membrana é rica em aminoácidos hidrofóbicos.

Principais funções das membranas

Adesão celular

As membranas citoplasmáticas de inúmeras células participam do mecanismo de ligação da célula com outra célula ou com elementos da matriz extracelular, através de diferentes tipos de proteínas de membrana, como as caderinas, lectinas, ocludinas, claudinas, conexinas, dentre outras.

Esses mecanismos de ligação permitem não somente manter as células unidas entre elas e com a matriz extracelular, impermeabilizando ou dando sustentação e resistência mecânica ao tecido, como também promovem meios de comunicação e troca de elementos entre as células.

EXEMPLO

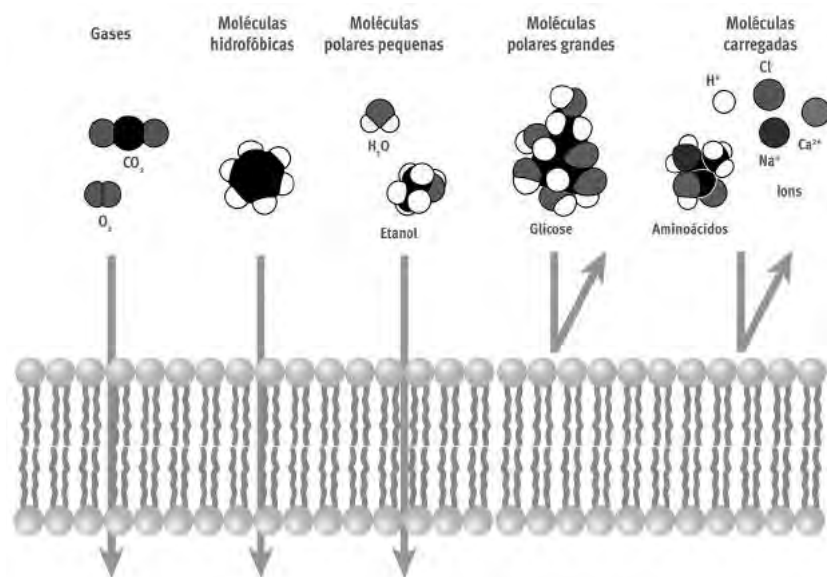
Cabe o destaque sobre o funcionamento do músculo cardíaco, o qual é dependente de três tipos de junções celulares, presentes nos discos intercalares; duas que promovem uma adesão firme entre as células e uma que promove um sistema de comunicação entre as células, onde sinais passam através das junções comunicantes entre células vizinhas, promovendo o sincronismo de contração celular adequado para o funcionamento do coração.

Reconhecimento celular

A participação da membrana no sistema de reconhecimento celular ocorre principalmente devido à presença de glicoproteínas e glicolipídios de membrana, as quais permitem a identificação de células diferentes do mesmo organismo, inclusive células cancerígenas, ou a identificação de células de indivíduos da mesma espécie ou de outra espécie.

CONCEITO

Transporte através da membrana

A terminologia se aplica sempre de forma comparativa entre dois meios. Contudo, na presença de uma barreira semipermeável (como a membrana plasmática), que impede apenas a passagem do soluto, o solvente passa do meio hipotônico para o meio hipertônico. Este tipo especial de difusão é denominado osmose.

EXEMPLO

Células de defesa do organismo são capazes de reconhecer células exógenas ou células "defeituosas e cancerígenas" e promover mecanismos para eliminá-las. Do mesmo modo, as células de um determinado grupo do mesmo organismo são capazes de se reconhecer e se agrupar para desenvolver um determinado tecido ou órgão, durante o desenvolvimento embrionário.

Transporte através da membrana

Quando dois meios entram em contato, os solutos tendem a passar, por difusão, do meio em que estão mais concentrados (meio hipertônico) para o meio em que estão menos concentrados (meio hipotônico), até que os meios atinjam o equilíbrio e apresentem a mesma concentração (meios isotônicos).

Nesse contexto, a permeabilidade seletiva é uma das características mais importantes da membrana celular, que funciona como uma barreira semipermeável, na qual apenas um pequeno grupo de moléculas é capaz de atravessar a membrana diretamente, atravessando a bicamada lipídica sem o auxílio de proteínas transportadoras ou de um sistema de formação e fusão de vesículas que ocorre durante a endocitose ou exocitose (como veremos posteriormente neste capítulo).

Esquema da passagem de moléculas através da bicamada lipídica da membrana, através de difusão simples. Note que a hidrofobicidade e o pequeno tamanho da molécula são relevantes para que o elemento possa atravessar a membrana por difusão simples.

ATENÇÃO

A propriedade de permeabilidade seletiva é fundamental para a fisiologia celular, permitindo a célula controlar, através de carreadores específicos ou transporte através de vesículas, a passagem de diversos moléculas e íons para o interior ou exterior das células e organelas, assim como, diversos metabólitos (ex. glicose e aminoácidos), algumas moléculas sinalizadoras (ex. hormônios e fatores de crescimento), dentre outros elementos, além de promover a manutenção de gradientes de concentração e de voltagem.

Nesse contexto, dependendo do gradiente eletroquímico, os íons e moléculas atravessam a membrana, a favor desse gradiente por meio de **transporte passivo** (sem gasto de energia) ou contra este gradiente, via **transporte ativo** (com gasto de energia, geralmente derivado da quebra da molécula de ATP). O transporte passivo envolve mecanismos de difusão com a ajuda de moléculas carreadoras (**difusão facilitada**) ou sem ajuda, diretamente através da membrana (**difusão simples**), em uma velocidade proporcional ao gradiente eletroquímico. Já o transporte ativo sempre envolve a participação de moléculas carreadoras e gasto de energia para que os solutos possam se deslocar para o meio mais concentrado, ou seja, contra o gradiente eletroquímico.

Transporte passivo sem ajuda de proteínas carreadoras

O transporte passivo de moléculas através da membrana, a favor de um gradiente e sem auxílio de carreadores, é chamado de **difusão simples.** Em geral, moléculas pequenas e hidrofóbicas (não polares) são transportadas desta forma, embora algumas poucas pequenas moléculas polares não carregadas, como o glicerol e a ureia, sejam capazes de atravessar a bicamada. A água também pode atravessar a membrana diretamente, como solvente devido ao fenômeno de osmose, como discutido previamente.

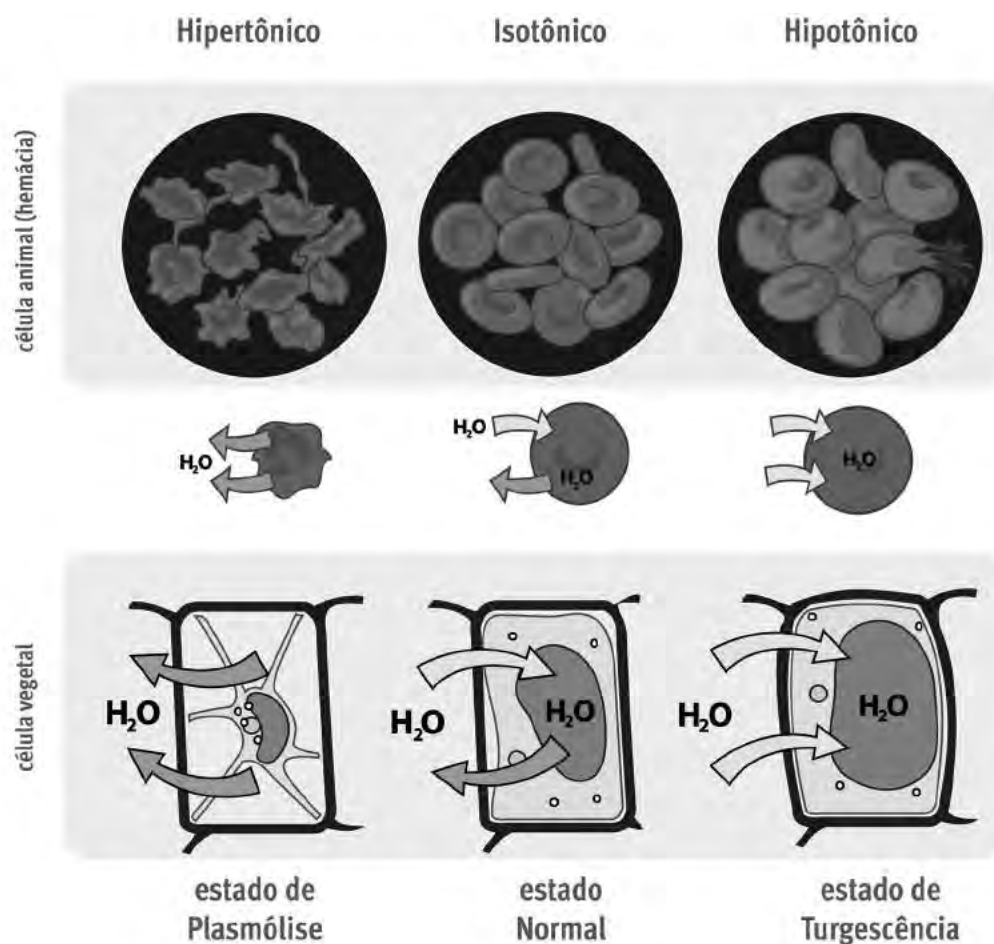
ATENÇÃO

Assim, quando células são expostas a meios hipertônicos ou hipotônicos, a ocorrência de osmose promove intensas mudanças na fisiologia e na tonicidade da célula, geralmente levando à morte celular, em processos denominados plasmólise e crenação.

A plasmólise é caracterizada pela retração do volume das células devido à perda de água por osmose, quando a célula é exposta a um meio exterior mais concentrado (hipertônico). No caso de hemácias, este processo é conhecido como crenação, ocorrendo danos irreversíveis à célula, que podem levá-la à morte.

Por outro lado, a turgência é caracterizada pelo aumento do volume devido à entrada de água na célula, através de osmose, quando a célula

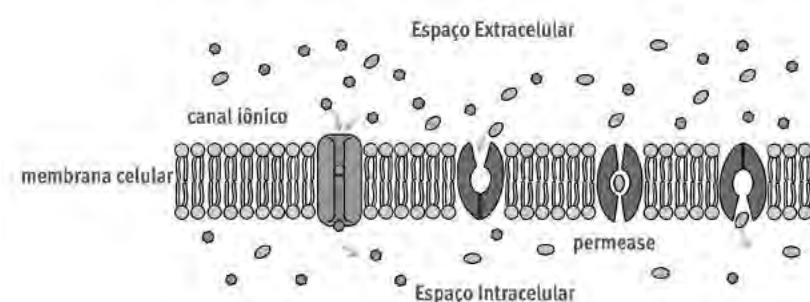
COMENTÁRIO

O gradiente eletroquímico é resultado do balanço entre o gradiente de concentração e o gradiente de voltagem. Por sua vez, o gradiente de concentração refere-se a diferenças na concentração de um ou mais solutos entre dois meios, enquanto o gradiente de voltagem (elétrico) corresponde a diferenças entre o balanço de cargas entre dois meios. No caso do gradiente de concentração, gera-se uma força motriz dirigindo os solutos relacionados em direção ao meio de menor concentração do soluto em questão. Por outro lado, no caso do gradiente de voltagem, o movimento ocorre em direção à carga oposta ao soluto, até que os meios se equilibrem. Contudo, na existência de ambos os gradientes, a migração do soluto é determinada pelo gradiente eletroquímico. Desta forma, quando um gradiente de concentração impulsiona um íon para migrar em um determinado sentido, enquanto o gradiente de voltagem favorece o deslocamento para o sentido oposto, o fluxo do íon deverá respeitar o gradiente que corresponder a uma maior diferença entre os meios. Caso as forças se equilibrem, o fluxo do íon será interrompido.

COMENTÁRIO

Na difusão simples, a velocidade de passagem dos solutos é proporcional do grau de solubilidade do soluto na bicamada lipídica e ao gradiente eletroquímico estabelecido.

é exposta a um meio exterior é menos concentrado (hipotônico) que o seu citoplasma. No caso de hemácias, este processo é denominado hemólise, devido ao rompimento de hemácias em resposta à entrada excessiva de água.

Vale ressaltar que, na célula vegetal, podemos perceber que a célula permanece intacta, devido à proteção da parede celular, e que a mesma pode sofrer um processo de deplasmólise, se a célula for novamente exposta a um meio hipotônico ou isotônico.

No entanto, vale frisar que, embora seja possível à água passar através da bicamada lipídica da membrana impulsionada por osmose, a passagem de grandes quantidades de água pela membrana envolve carreadores específicos, chamados aquaporinas. O sistema de regulação desse transporte não envolve o controle da abertura desses transportadores (estando sempre abertos para a passagem de água) e, sim, o controle do número de aquaporinas presente na membrana da célula.

Esquema comparativo dos processos de plasmólise e turgescência entre células animais e vegetais. Note que em meio hipertônico as células perdem água e volume, enquanto em meio hipotônico elas ganham água e volume.

Transporte passivo com a ajuda de proteínas carreadoras

Os íons e moléculas grandes e polares não conseguem atravessar a região hidrofóbica da membrana e, assim, necessitam de proteínas transportadoras (integrais transmembrana)

para facilitar seu transporte, ou são transportados por exocitose ou endocitose. O transporte dessas moléculas e íons através da membrana pode ocorrer a favor de um gradiente eletroquímico, sendo chamado de **transporte passivo por difusão facilitada.** Neste caso, não há gasto de energia e as proteínas transportadoras são classificadas como **permeases** (transportadores ou carreadores) ou como **canais iônicos.**

Esquema do transporte passivo de solutos através da membrana via difusão facilitada, promovido por perméases ou canais iônicos. Note que os canais formam túneis por onde o soluto passa, enquanto as perméases mudam de conformação para promover a passagem do elemento.

As ***perméases*** são específicas para os solutos que transportam e após interagir com estes, mudam sua conformação liberando-os no meio, em contato com a outra face da membrana, voltando à forma original após o transporte do soluto, sem alterar sua composição. Neste processo, estes transportadores não formam canais. Por outro lado, os canais iônicos apresentam-se como poros/canais polares (hidrofílicos), formados por 4 a 5 proteínas integrais transmembrana, geralmente multipassos, por onde íons específicos são capazes de atravessar e atingir o outro lado da membrana, a favor de um gradiente eletroquímico. A passagem desses íons pela membrana pode ser regulada, uma vez que a maioria desses canais podem se conservar fechados até que surjam estímulos específicos para sua abertura. A abertura de alguns canais é regulada por modificação no potencial de membrana (**em canais iônicos dependentes de voltagem**), ligação de moléculas (**em canais iônicos dependentes de ligante**) ou até por contato mecânico (**em canais iônicos dependentes de contato**).

Após a abertura, esses canais permanecem abertos por milésimos de segundos, permitindo a passagem dos íons específicos neste intervalo, quando se fecham e tornam-se inativos por um período de tempo (período refratário), mesmo na presença de estímulo. Este período refratário permite controlar a atividade do canal, impedindo que um mesmo estímulo se propague indefinidamente. Vale dizer, também, que no caso de alguns canais dependentes de ligante, o ligante pode se ligar na superfície externa do canal, enquanto em outros, a ligação ocorre na superfície voltada para o citosol.

CONCEITO

Perméases

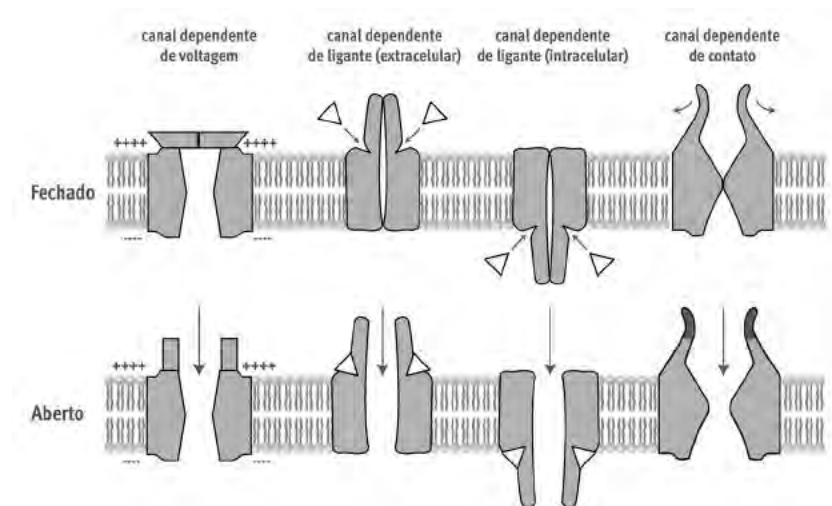
Permeases são enzimas de transporte participantes no processo de difusão transmembranosa.

? CURIOSIDADE

Algumas plantas insetívoras possuem canais dependentes de contato em pelos. Assim, quando a presa pressiona esses pelos, ocorre abertura dos canais iônicos dependentes de contato, disparando eventos celulares que provocam o fechamento da folha e aprisionamento do inseto.

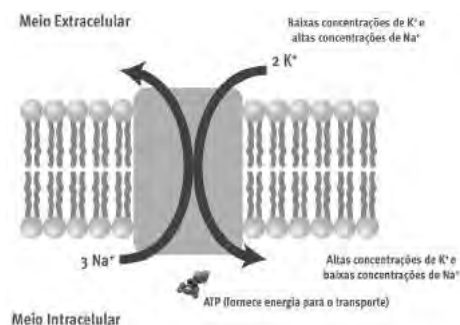
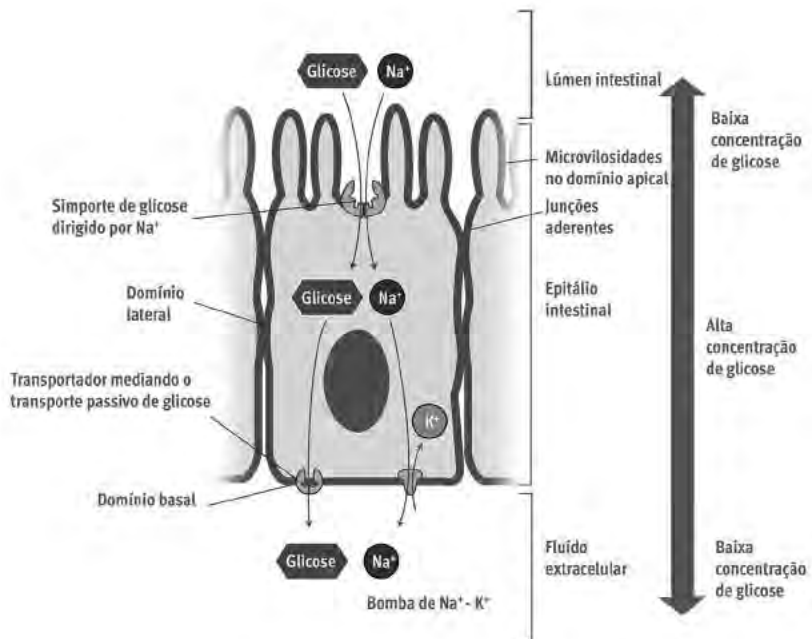
CONCEITO

Transporte ativo

O transporte de moléculas e íons contra um gradiente eletroquímico é denominado transporte ativo e depende de permeases especiais, chamadas bombas. Neste caso, há gasto de energia, muitas vezes derivada da quebra da molécula de ATP.

Esquema dos tipos de controle da abertura dos canais iônicos dependente de voltagem, dependente de ligante ou dependente de contato. Note que o canal dependente de voltagem abre após mudança do potencial elétrico da membrana, enquanto a abertura de canais dependentes de ligante ocorre após a ligação de ligantes externos ou interno em regiões apropriadas do canal. Para canais dependentes de contato, a abertura está vinculada ao contato mecânico no canal.

Transporte ativo com ajuda de proteínas carreadoras

Transporte ativo primário

O ***transporte ativo*** primário é essencial para a manutenção de diversos tipos de gradientes eletroquímicos na célula e em suas organelas, importantíssimos para a fisiologia celular. O transporte simultâneo de dois íons de potássio para dentro da célula e três íons de sódio para fora da célula, através da bomba de sódio potássio ATPase ou Na^+/K^+- ATPase, é o exemplo mais conhecido deste tipo de transporte ativo primário. Vale mencionar que este transporte é necessariamente acoplado e que, como consequência, a concentração de K^+ é 30 vezes maior dentro da célula que no meio extracelular, enquanto a concentração de Na^+ é 10-30 vezes maior no meio extracelular do que dentro da célula. Essas diferenças são essenciais para a manutenção do potencial elétrico da membrana (por se tratar de bomba eletrogênica) e para o controle de diversas atividades celulares associadas.

Esquema detalhando o funcionamento da bomba de Na^+/K^+ ATPase. Note que a entrada de dois íons K^+ na célula ocorre simultaneamente à saída de três íons Na^+ e que a quebra da molécula de ATP fornece energia para promover a passagem destes íons contra um gradiente de concentração.

ATENÇÃO

A bomba de Na^+K^+ ATPase é formada por duas subunidades α e 2 subunidades β. As subunidades α possuem sítios para ligação de Na+ e K+, nas extremidades citosólicas e externa, respectivamente, dando especificidade de transporte. A energia para transportar estes íons contra os respectivos gradientes provém da hidrólise da molécula de ATP.

Transporte ativo secundário

Um exemplo claro de transporte ativo secundário ocorre nas células do intestino delgado, durante a absorção de glicose na superfície apical da célula (face da célula exposta à luz do intestino). Uma perméase específica promove a passagem simultânea de glicose e Na^+ do meio extracelular para o interior da célula. Neste caso, como existe um gradiente favorecendo a passagem do Na^+ para o citoplasma, não há gasto direto de energia. Contudo, para manter este gradiente de Na^+ é necessário promover a saída do sódio novamente para o meio extracelular, contra um gradiente de concentração, veiculado pela bomba de sódio potássio ATPase e envolvendo gasto de energia.

Portanto, este tipo de transporte, apesar de não envolver gasto de energia de uma forma direta, depende da atividade em paralelo de um transportador ativo, sendo, então, denominado transporte ativo secundário. Do mesmo modo, após a glicose entrar na célula, ela pode ser transportada passivamente por uma perméase para o meio extracelular em contato com a superfície basal da célula.

Transporte transcelular de glicose nas células do epitélio intestinal, envolvendo mecanismo de transporte ativo secundário. Note que ocorre simporte de glicose e de

COMENTÁRIO

Fármacos como a digitoxigenina e a ouabaína, utilizados para tratamento coronário, são inibidores da bomba de Na^+K^+ ATPase. A diminuição da ação da bomba leva ao menor acúmulo de Na+ no meio extracelular e, consequentemente, diminui a troca de Na^+ e Ca_2^+ através de outro tipo de transporte, levando ao acúmulo de Ca_2^+ no interior da célula cardíaca, o que aumenta o vigor da contração.

CURIOSIDADE

A bomba de Na+K+ ATPase tem sua atividade controlada pelo ambiente lipídico no qual se encontra, por ciclos de fosforilação e desfosforilaçao em suas subunidades, assim como pelos gradientes de Na+ e K+. Sendo que esta bomba pode até funcionar como ATP sintase em situações em que as concentrações dos gradientes destes íons ultrapassarem determinados valores.

CONCEITO

Uniporte

Quando a perméase ou bomba transporta apenas um tipo de soluto (como no caso da perméase, que transporta glicose através da membrana basal da célula do epitélio intestinal para o meio extracelular);

Simporte (cotransportador)

Quando a perméase ou bomba transporta simultaneamente dois solutos distintos no mesmo sentido (como exemplificado pelo cotransporte de Na+ e glicose para o interior da célula do epitélio intestinal);

Antiporte (permutadores)

Quando a perméase ou bomba transporta simultaneamente dois solutos, em sentidos opostos. Existem outros transportadores dependentes do gradiente de Na+ gerado pela ação prévia da bomba de sódio potássio ATPase, como por exemplo o transporte simultâneo de Na+ e H+ ou de Na+ e Ca2+, que se utilizam do sistema de transporte ativo secundário. Desta forma, podemos perceber a vital importância da bomba de sódio potássio ATPase para a fisiologia celular e sobrevida do organismo como um todo.

CURIOSIDADE

MDR

A ação indesejável destas MDR também tem sido observada em linfócitos infectados pelo vírus da imunodeficiência adquirida – HIV – e em alguns parasitas, dificultando o tratamento dos indivíduos infectados por estes patógenos.

Na^+ realizado, a favor de gradiente, pelo transportador localizado na parte apical da célula. Para manter este sistema funcionando, posteriormente, o Na^+ é novamente transportado para fora da célula, em associação com a entrada de K^+, através de antiporte, desempenhado pela bomba de Na^+/K^+ ATPase (um transportador ativo), contra um gradiente de concentração e, portanto, com gasto de energia. Além disso, pode-se notar o uniporte de glicose, promovendo a saída de glicose através da superfície basal da célula, mediada por uma perméase.

O esquema gráfico exposto anteriormente exemplifica a ocorrência de perméases de transporte passivo ou bombas envolvidas no transporte específico de um ou mais solutos. Assim, podemos classificar estes transportadores em uniporte, simporte e antiporte.

Transporte ativo através da membrana via sistema ABC

As proteínas transportadoras ativas ABC (sigla derivado do nome em inglês *ATP-binding cassette*), encontradas na membrana citoplasmática e de organelas de inúmeras células, desempenham a atividade de ATPase, e assim, fornecem energia para o transporte de alguns solutos contra um gradiente de concentração.

Muitos desses transportadores são responsáveis pela eliminação de substâncias tóxicas derivadas do metabolismo da célula. Contudo, alguns desses transportadores, denominados ***MDR*** (sigla derivada do inglês *multidrug resistance*) são encontrados em grande número na membrana de células tumorais, atuando no transporte de drogas citotóxicas (usadas na terapia anticâncer) para fora da célula cancerígena, e consequentemente inviabilizando sua ação e a eficácia do tratamento quimioterápico.

Outros tipos de transporte através da membrana

Outro tipo de transportador de membrana de grande importância são os translocons ou canais de translocação. Estes transportadores, presentes na membrana do retículo endoplasmático, estão envolvidos na translocação do peptídeo nascente através da membrana do retículo endoplasmático, durante a síntese de proteínas (Cap. 5). Além disso, alguns translocons também participam do deslocamento de proteínas inteiras através da membrana de diversas organelas, durante a importação das mesmas (como exemplificado nos tópicos sobre mitocôndrias e cloroplastos do Cap. 5).

Existem, também, as porinas, proteínas transportadoras pouco específicas, encontradas na membrana externa de mitocôndrias e algumas bactérias, responsáveis pela passagem de íons e pequenas moléculas.

Finalmente, um sistema bastante complexo de transporte através da membrana é representado pelos poros nucleares, responsáveis pelo trânsito entre o núcleo e o citoplasma de enzimas, de subunidades ribossômicas e de fatores de transcrição, dentre outros (Cap. 4).

Transporte através de vesículas

Outro mecanismo de transporte para o interior ou para o exterior da célula, assim como entre diferentes compartimentos celulares, envolve a formação de ***vesículas***.

Essas vesículas podem conter íons ou moléculas solúveis, assim como moléculas presas às suas membranas. Desta forma, quando essas vesículas se fundem com a membrana do compartimento ou da organela "destino" ou "alvo", os íons ou as moléculas solúveis passam para o interior da mesma ou são secretadas para o exterior da célula (no caso de fusão com a membrana citoplasmática), enquanto as moléculas da membrana da vesícula passam a fazer parte da membrana do compartimento ou da organela "destino" ou "alvo".

Também, através da formação de vesículas, a célula é capaz de englobar partículas, células mortas, pedaços de tecidos e patógenos para serem digeridos.

CONCEITO

Vesículas

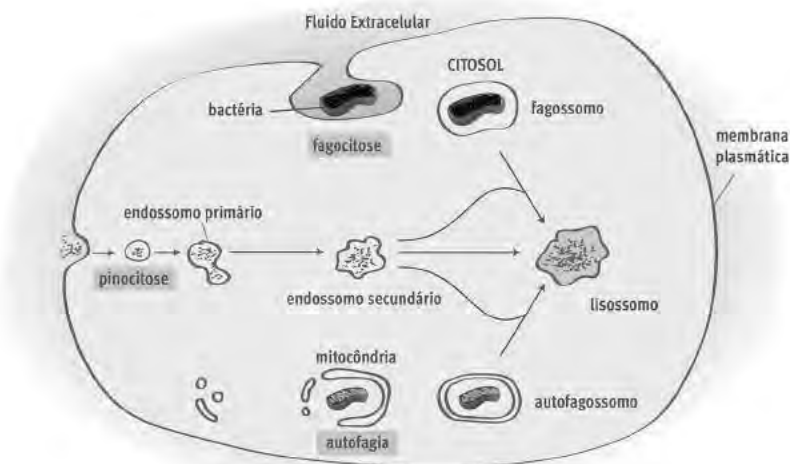
O termo "vesícula" é de origem latina e significa "bolha", "bexiga" ou "cavidade", mas também pode ser utilizado para designar tanto órgãos e patologias nos seres vivos quanto estruturas celulares. Este estudo se baseia nesta segunda acepção.

EXEMPLO

Organelas celulares defeituosas ou obsoletas (ex.: mitocôndrias) são englobadas por membranas, no interior da célula, e posteriormente destruídas pela ação dos lisossomos. Neste contexto, este mecanismo é de suma importância para diversos eventos celulares, como síntese e secreção de lipídios, proteínas e glicoproteínas (ex.: elementos de matriz extracelular e hormônios) para o meio extracelular, defesa do organismo contra invasores e células cancerígenas, secreção de produtos do metabolismo celular, mecanismo de sinalização celular, processo de contração celular, transmissão do impulso nervoso, transporte de substâncias de um compartimento celular para outro ou através da célula, dentre outros eventos.

Esquema ilustrando os processos de endocitose e exocitose. Note que o processo

? CURIOSIDADE

Pinocitose

O nome pinocitose é derivado do termo grego *pínei,* que faz referência ao ato de beber.

de endocitose e de exocitose envolvem tráficos de elementos no interior de vesículas formadas por membranas da própria célula. Além disso, oorre transferência de elementos entre organelas através da formação dessas vesículas em uma organela e fusão em outra. *Retículo E.L - Retículo endoplasmático liso. Retículo E.R. - Retículo endoplasmático rugoso.*

A seguir, explicaremos mais detalhadamente três processos celulares que envolvem o transporte de substâncias ou partículas através de vesículas: endocitose (para o interior da célula),exocitose (para o meio extracelular), transcitose (através da célula).

Endocitose

O mecanismo de endocitose envolve o englobamento de solutos, moléculas, partículas, pedaços de tecido, células cancerígenas, células mortas ou micro-organismos através da membrana citoplasmática da célula, seguido por formação de vesícula no interior da célula e digestão do elemento englobado por enzimas presentes nos lisossomos. Assim, este processo pode ser classificado em ***pinocitose*** ou fagocitose, dependendo do tipo de elemento englobado.

Esquema ilustrando os processos de endocitose. Note que, nos diferentes casos de endocitose, o lisossoma é formado pelo endossoma secundário (que contém as enzimas digestivas) fusionado com as vesículas que contém o material a ser digerido (fagossoma, autofagossoma e vesículas derivadas do endossoma primário).

Pinocitose

A pinocitose é um processo de endocitose de líquido e solutos dispersos.

Durante este processo, a célula forma uma vesícula chamada pinossomo, que pode se fundir com o endossoma primário, a qual forma

novas vesículas que se fundem com o endossoma secundário (que possui enzimas digestivas), acompanhado da redução do pH para formar o lisossomo, onde os solutos podem ser digeridos. A pinocitose pode ainda ser classificada em pinocitose inespecífica, onde a célula executa a pinocitose de elementos inespecíficos que estão no meio extracelular, sem necessidade da presença de um ligante (sinal).

Algumas vezes a pinocitose acontece de maneira específica, sendo chamada de pinocitose regulada, uma vez que depende da ligação de um ligante (muitas vezes do próprio elemento a ser pinocitado) no receptor da membrana. Esta é característica de apenas alguns tipos celulares.

ATENÇÃO

A superfície citosólica do local em que ocorre a pinocitose regulada está associada a uma proteína chamada clatrina, que recobre a membrana do pinossoma. Na pinocitose inespecífica, nem sempre ocorre esse revestimento.

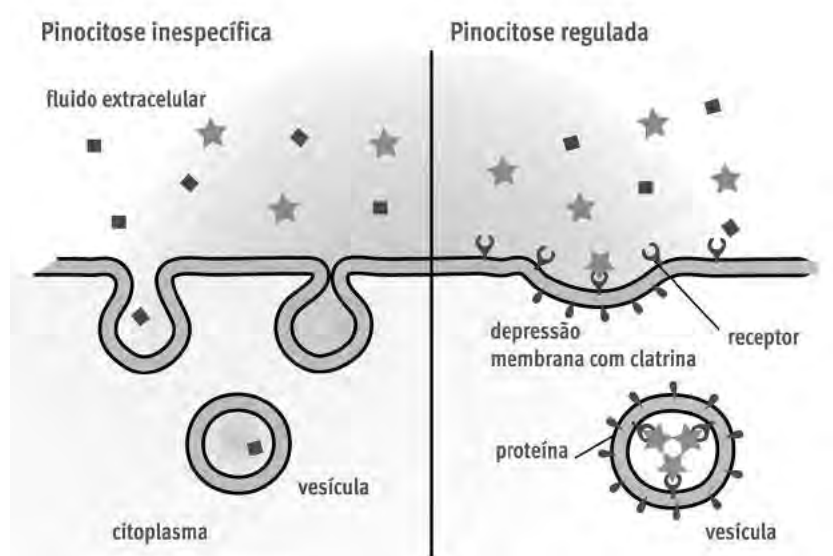



Figura ilustrando o processo de pinocitose inespecífico e o processo de pinocitose regulada. Note que na pinocitose regulada (mediada por receptor) existe a presença de receptores que se ligam aos sinais para promover a pinocitose e a superfície citosólica do local da pinocitose contém um revestimento de clatrina. Na pinocitose inespecífica não há dependência de sinais e nem sempre ocorre revestimento de clatrina.

Fagocitose

Fenômeno em que a célula engloba partículas, pedaços de tecido, células mortas, células cancerígenas ou micro-organismos.

A fagocitose tem início com o englobamento do elemento do meio extracelular e a formação de uma grande vesícula denominada fagossomo. Posteriormente, o fagossomo se funde com o endossoma secundário,

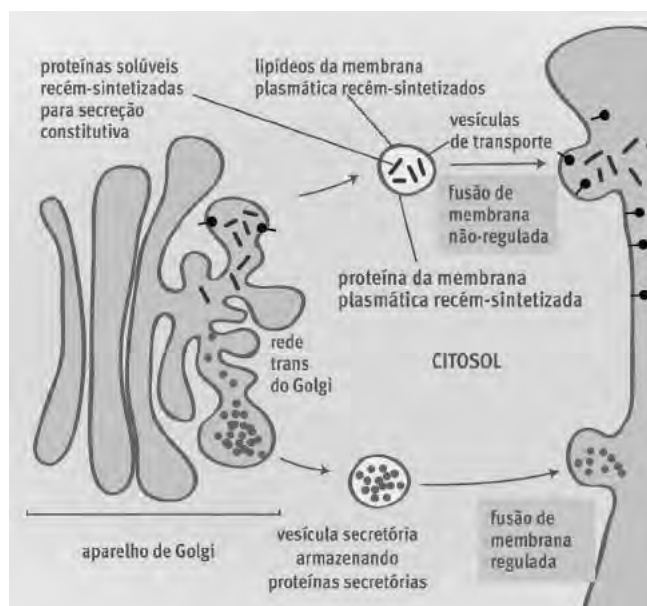
CONCEITO

Pinossoma

Vesícula derivada do englobamento do material extracelular durante a pinocitose.

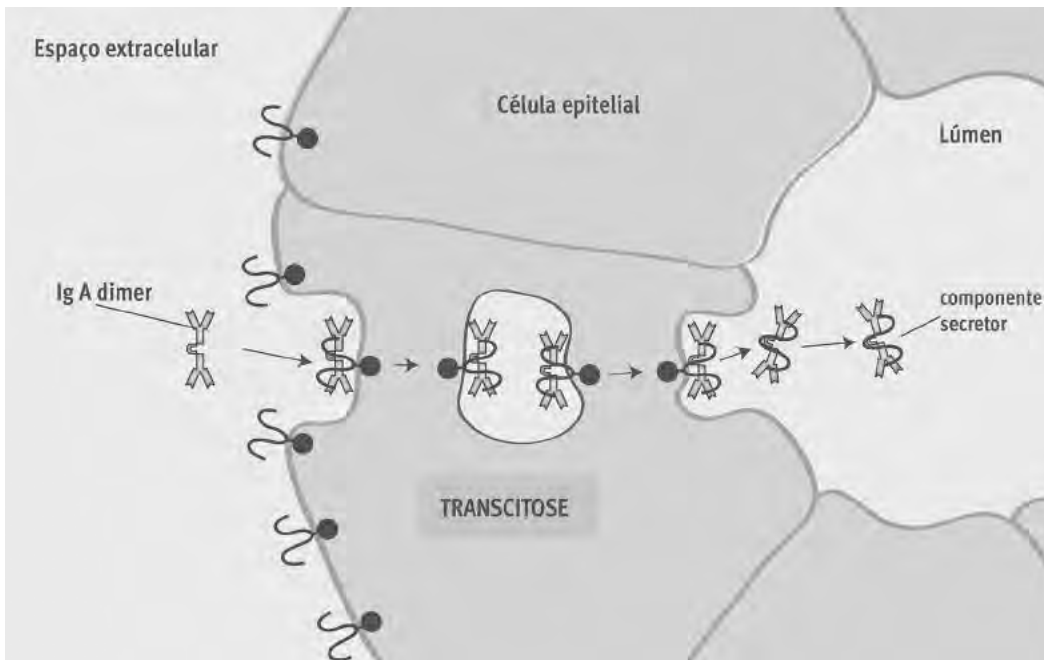
CONCEITO

Fagocitose

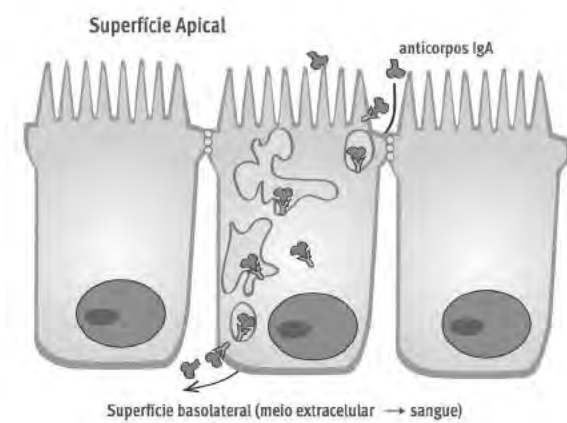
Neste evento, como os elementos são maiores, o termo grego *phageîn* é utilizado para fazer alusão ao ato de comer.

acompanhado de redução do pH interno, formando o lisossoma, onde o material englobado é digerido pelas enzimas lisossomais. Vale mencionar que a fagocitose é fundamental para diversos mecanismos do sistema de defesa do organismo contra inúmeros patógenos.

Exocitose

O processo de exocitose permite que a célula possa excretar grandes quantidades de produtos metabólicos provenientes do processo de digestão celular, bem como secretar para o meio extracelular compostos sintetizados no interior da célula. Este último processo envolve a formação de vesículas no complexo de Golgi que, ao se fundirem com a membrana, liberam as moléculas encontradas no seu interior para o meio extracelular.

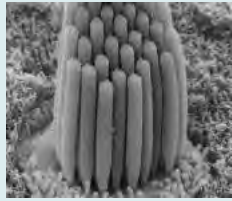
! ATENÇÃO

O mecanismo de exocitose pode ser classificado como **exocitose constitutiva,** quando a fusão da vesícula com a membrana citoplasmática independe da ligação de ligantes a receptores celulares, permitindo, desta forma, a liberação contínua do composto após a sua síntese. Por outro lado, na **exocitose regulada** existe a necessidade da ligação de um ligante específico a receptores celulares, para que ocorra a fusão da vesícula com a membrana e a consequente secreção do composto para o meio extracelular.

Esquema ilustrando os diferentes tipos de exocitose. Note o processo de exocitose constitutiva esquematizado na parte superior da figura, não depende da ligação de um sinal (ligante) para promover a fusão da vesícula com a membrana. Por outro lado, o processo de exocitose regulada esquematizado na parte inferior da figura ilustra a ligação de um sinal a um receptor da membrana citoplasmática para que ocorra a fusão da vesícula secretória.

Transcitose

O mecanismo de transcitose corresponde a um sistema que envolve um processo de englobamento de elementos presente no meio extracelular, onde a vesícula formada (contendo o elemento endocitado) se desloca ao longo do citoplasma da célula e se funde com a membrana citoplasmática referente ao outro polo da célula, promovendo a liberação do composto na matriz extracelular.

Esquema ilustrando o mecanismo de transcitose da imunoglobulina A, nas células da glândula mamária de nutrizes. Note que após os dímeros dos anticorpos IgA (oriundos da corrente sanguínea) sofrerem endocitose e atravessarem a célula da glândula mamária dentro de vesículas, eles são secretados intactos no meio extracelular em contato com o outro polo da célula, para compor o leite materno.

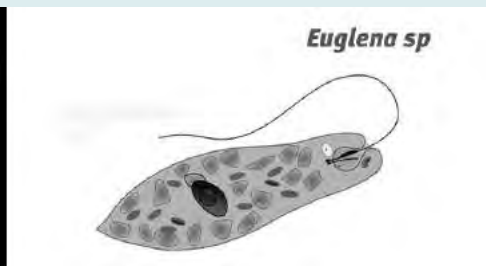
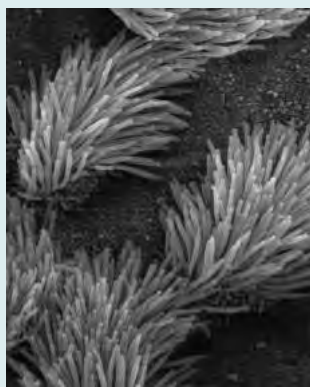
EXEMPLO

Um exemplo clássico desse mecanismo ocorre quando células da glândula mamária englobam e secretam imunoglobulinas A, juntamente com os nutrientes secretados no leite. Do mesmo modo, nas células do epitélio intestinal do lactente ocorre a endocitose da imunoglobulina A, que é liberada íntegra através de exocitose na matriz extracelular junto à base desta célula, permitindo que as imunoglobulinas íntegras possam circular posteriormente pela corrente sanguínea do lactente.

Esquema ilustrando o mecanismo de transcitose da imunoglobulina A nas células do epitélio intestinal do lactente. Note que após os anticorpos IgA (oriundos do leite materno) se ligarem a receptores específicos (em verde), sofrerem endocitose e atravessarem a célula do epitélio intestinal no latente dentro de vesículas, eles são secretados intactos no meio extracelular em contato com o outro polo da célula, seguindo para a corrente sanguínea.

Especializações da membrana

A membrana celular dos muitos tipos diferentes de células apresentam estruturas especializadas que permitem o desempenho de atividades específicas. Dentre elas, podemos destacar:

Especializações relacionadas ao aumento da área de superfície

- **Microvilosidades (microvilos):** prolongamentos da membrana citoplasmática, encontrados em células do epitélio do intestino delgado e epitélio renal, que promovem aumento da superfície de absorção destas células;

- **Estereocílios:** prolongamentos da superfície celular, encontrados em células epiteliais do epidídimo e ductos do aparelho genital masculino e pavilhão auditivo. Estas estruturas também aumentam a superfície de absorção das células, facilitando o transporte de água e moléculas, mas são diferentes dos microvilos porque são frequentemente ramificados e de maior comprimento.

Estereocílios em células do ouvido interno de um sapo.

Especializações relacionadas ao movimento celular

- **Flagelo:** projeções móveis da membrana plasmática que ocorrem nos espermatozoides, protozoários (como a leishmânia), algas unicelulares (como a euglena) e alguns procariontes, permitindo seu movimento.

Micrografia de espermatozoides e ilustração de Euglena s.p, destacando a presença de flagelos. Note que a estrutura que forma a cauda dessas células corresponde ao flagelo.

- **Cílios:** projeções móveis semelhantes a pelos, com um diâmetro de 0,2 μm e comprimento de 7 a 10 μm, encontrados na membrana plasmática de algumas células epiteliais, como células do epitélio respiratório e dos ovidutos e em protozoários ciliados. Estas estruturas se diferenciam de flagelos por terem menor tamanho e, geralmente, se apresentar em maior número. Além disso, são importantes não apenas para o movimento de algumas células, como também são especializados em propulsão de muco e de outras substâncias pela superfície celular, através de rápidas oscilações rítmicas.

Micrografia de cílios que se projetam a partir do epitélio respiratório nos pulmões.

Outras especializações

Existem diversas especializações que podem estar relacionadas à adesão entre células, entre células e a matriz extracelular, bem como à comunicação celular, exemplificadas abaixo:

Adesão entre as células e ancoragem com lâmina basal
Junção aderente (cinturão de adesão) — une as células firmemente;
Desmossomas — une as células firmemente;
Hemidesmossomas — une as células com a matriz;
Contato focal — une as células com a matriz.
Vedação (oclusão entre as células)
Junção ou zônula de oclusão (compacta) — une as células, impermeabilizando o tecido.
Comunicação entre as células
Junção GAP ou Comunicante ("nexus"): permite a comunicação entre as células.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTS B. Bray; JOHNSON A. Lewis J.; RAFF M.; ROBERTS K. and WALTER P. *Biologia Molecular da Célula.* 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

DE ROBERTIS, E. *Bases da Biologia Celular e Molecular.* 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Biologia Celular e Molecular.* 9. ed. Guanabara Koogan, 2012.

IMAGENS DO CAPÍTULO

Comunicação e formação de comunidades celulares

VALÉRIA NACIFE

3

Comunicação e formação de comunidades celulares

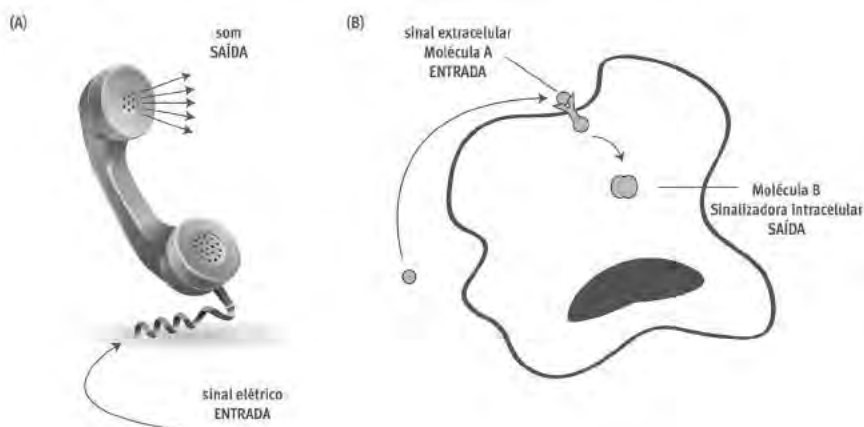
CONCEITO

Biofilmes

Biofilmes são sistemas biológicos altamente organizados, onde as bactérias estabelecem comunidades funcionais estruturadas e coordenadas. São considerados ecossistemas microbianos complexos formando populações de uma única, ou de múltiplas espécies. Podem ser encontrados em uma variedade de superfícies bióticas e/ou abióticas.

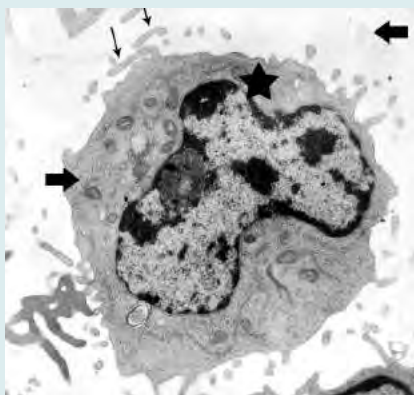
Desde a infância, as crianças começam a perceber a existência de um grande número de seres vivos. As diferenças e os vários nomes provocam curiosidade e uma enorme vontade de conhecê-los.

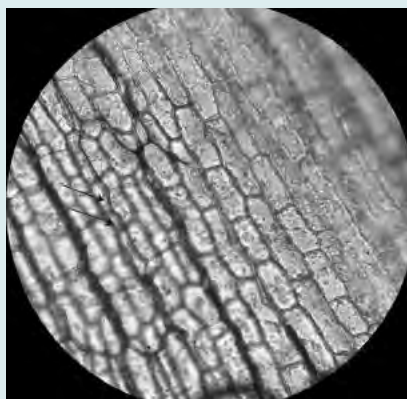
Mas, como podemos definir um ser vivo?
Como cada ser é formado?
Como seus componentes se comunicam?

A formação de comunidades celulares envolve formação de tecidos, câncer, células-tronco e ***biofilmes*** microbianos. É importante ressaltar que a vida de todos os organismos pluricelulares está baseada na comunicação e nas interações entre as células, características que serão estudadas ao longo deste capítulo.

EXEMPLO

A formação do biofilme microbiano pode envolver bactérias, seres unicelulares. Citamos a formação de biofilme bacteriano que pode influenciar a flora intestinal humana. O reconhecimento do ser humano para as bactérias envolve receptores de superfície.

Neste capítulo, abordaremos o que se refere a tecidos, câncer, biofilme microbiano, comunicação, sinalização e reconhecimento celular.

Outro aspecto que será estudado no processo de comunicação celular é a informação, princípio básico para que ocorra a sinalização. Através dela há uma comunicação e uma conversão dos sinais de informação de uma forma para outra. Na figura a seguir, observamos que para haver uma resposta há a necessidade do envio de um sinal e que esse sinal seja interpretado e entendido.

Este esquema compara a resposta de um aparelho de telefone, após a emissão de sinais elétricos com a resposta de uma célula a um estímulo externo. A Figura "A" ilustra a transmissão de um sinal elétrico para que o som seja emitido através do fone do telefone e seja ouvido e entendido. A figura "B" mostra a captura de uma partícula (em vermelho) pela célula. Para que isso ocorra há necessidade do reconhecimento da partícula pelo receptor encontrado na superfície celular, facilitando sua entrada. Isto mostra que, para ambos os casos, há a necessidade de um sinal externo para que ocorra a comunicação e o entendimento do que está sendo solicitado.

Introdução

Os seres vivos são formados por uma unidade estrutural e funcional chamada célula. A seguir observamos uma célula animal, na qual foram destacados o núcleo, as mitocôndrias, a membrana plasmática, e na figura seguinte podemos observar a parede celulósica encontrada em células de vegetais.

Estudos bioquímicos mostram que a matéria viva é composta por elementos que são considerados complexos e diversificados. Entretanto, muitas características são comuns a todos eles.

"Do simples para o complexo, moléculas organizadas formam as células, que unidas formam os tecidos, que unidos formam os órgãos, os quais unidos formam os sistemas orgânicos que criam e mantém a vida."

Célula animal - Macrófago de peritôneo de camundongo observado ao microscópio eletrônico (Aumento 14.000X). Nesta foto, podemos destacar o núcleo (estrela), mitocôndrias (setas finas) e prolongamentos emitidos pela membrana celular (setas largas).

Célula vegetal - *Elodea* – Imagem obtida por microscopia de luz - obtida após a imersão da folha de *Elodea* em água natural. Observamos a parede celular (setas) característica das células vegetais

Características identificadoras dos seres vivos

A primeira característica que melhor define um ser vivo é sua complexa organização.

As células que constituem os seres vivos apresentam estruturas interligadas a uma grande quantidade de moléculas complexas. Se por alguma razão a organização celular for destruída, a função da célula também será alterada.

Os seres vivos possuem uma enorme variedade de espécies, em contraste com os seres inanimados. Estudos bioquímicos mostram que a matéria viva está composta pelos mesmos elementos que compõem o mundo inorgânico apesar de existir diferenças na sua organização.

EXEMPLO

A molécula da água e as rochas apresentam características próprias, e mesmo sendo compostas de elementos semelhantes aos dos seres vivos não possuem as características desses seres.
Outra característica dos seres vivos é que cada componente de que ele é formado tem uma função específica. Podemos entender claramente, quando estudamos estruturas macroscópicas e visíveis, como asas, olhos, flores ou folhas; ou estruturas intracelulares, como a mitocôndria e a membrana celular.

Compostos químicos individualizados são encontrados nas células, como lipídios, proteínas e ácidos nucleicos que também apresentam funções específicas. Nos organismos vivos, é bastante comum nos perguntarmos qual seria a função de uma determinada molécula. O que é considerado sem importância quando nos referimos à matéria inanimada.

Além das características anteriores, os organismos vivos possuem a capacidade de extrair e transformar a energia do meio ambiente, que é usada para manter as estruturas agrupadas e na locomoção de determinados seres.

A seguir estudaremos os tecidos, que são formados por um conjunto de células que desempenham funções especializadas.

Tecidos

O estudo dos tecidos é realizado pela parte da Biologia conhecida como:

Histologia (Histo = tecido; logos = estudo).

Neste capítulo, estudaremos apenas os tecidos epitelial, conjuntivo, muscular e nervoso, separados de acordo com tipo celular e função que realizam.

Você sabe como surgem os tecidos?

O tecido é formado por um conjunto de células, semelhantes ou não, que desempenham uma determinada função.

Tecidos considerados simples podem se regenerar mais facilmente que tecidos complexos. Por exemplo, quando uma parte de nossa pele é machucada (ferida) é recuperada com bastante rapidez e facilidade. Muito diferente do que acontece no caso de uma lesão cerebral.

Os tecidos formam os órgãos. Em nosso corpo, praticamente todos os órgãos são formados pela união de um ou mais tipos de tecidos.

Na maioria dos seres vivos, a reprodução é sexuada. Neste tipo de reprodução, todas as células surgem a partir de uma única célula, a célula-ovo. Ela sofre divisões e produz um grupo de células, dando início à formação do embrião.

Momento em que o espermatozoide penetra no óvulo, dando inicio à fecundação.

Em determinada fase, este embrião é formado por duas camadas de células: a externa e a interna. A camada externa é chamada de ectoderme e dá origem a tecidos como o que reveste o corpo do embrião, a epiderme e ao sistema nervoso. A outra camada é chamada de endoderme e dá origem ao revestimento do tubo digestivo e do sistema respiratório, entre outras estruturas.

Em uma fase mais avançada do desenvolvimento deste embrião, surge uma terceira camada, a mesoderme. Esta camada é responsável pela produção de vários tecidos situados no interior do corpo animal, como os tecidos conjuntivo, muscular, sanguíneo, dentre outros. Estudaremos neste capítulo, um pouco dos tecidos epitelial, conjuntivo, muscular e nervoso.

Embrião humano com aproximadamente 10mm na quinta semana de gestação.

CONCEITO

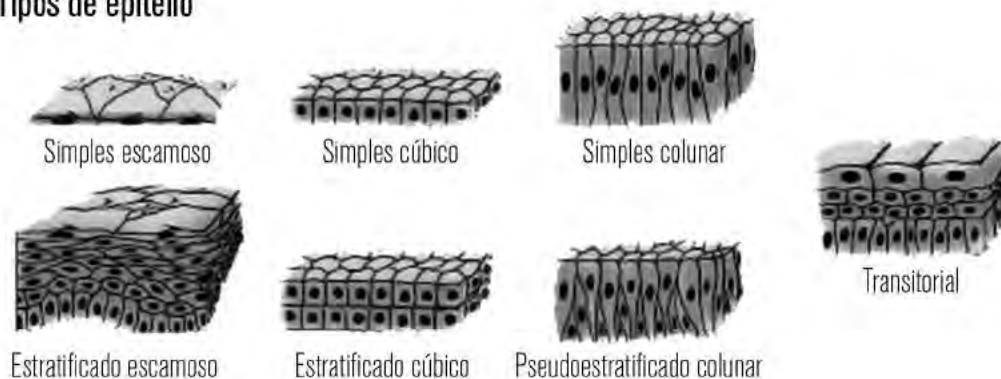
Fecundação

Fecundação é a união das células sexuais masculina e feminina, haplóides, com fusão dos seus núcleos e formação de um zigoto diplóide.

Origem de algumas estruturas.

Tecido epitelial

No nosso organismo, este tecido reveste todas as superfícies internas e externas e formam as glândulas. Entre o tecido conjuntivo e o epitelial encontramos a lâmina basal.

PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DO TECIDO EPITELIAL:

- Células unidas com pouca substância entre elas (pouca substância intercelular);
- Não possui vascularização, mas apresenta terminações nervosas;
- Presença de tecido conjuntivo que tem como funções a nutrição e a retirada de excretas, já que não possui a vascularização.

PRINCIPAIS FUNÇÕES DO TECIDO EPITELIAL:

- Proteção;
- Revestimento.

O tecido epitelial pode ser classificado de acordo com o número e a forma das células:

CRITÉRIO	NOME	CARACTERÍSTICAS
NÚMERO E APARÊNCIA DAS CAMADAS CELULARES	1 - Simples 2 - Estratificados 3 - Pseudoestratificados	Uma única camada celular. Mais de uma camada celular. Uma única camada celular, com células de diferentes alturas.
FORMA DAS CÉLULAS	1 - Pavimentosos 2 - Cúbicos 3 - Prismáticos 4 - De transição	Células achatadas. Células cúbicas. Células prismáticas. Células de forma variável.

Tecido conjuntivo

Em oposição ao tecido epitelial, no tecido conjuntivo, as células são separadas uma das outras e apresentam uma grande quantidade de substâncias intercelulares, chamadas de matriz extracelular. Não apresentam células justapostas, como no tecido epitelial, entretanto possuem vascularização e terminações nervosas. Esse tecido é originado de células embrionárias da mesoderme, denominadas células mesenquimais. Dependendo do tipo de material intercelular que determina a estrutura e a função desse tecido, podemos classificá-lo em: frouxo, denso, adiposo, cartilaginoso, ósseo e sanguíneo.

A matriz extracelular possui duas partes:

- **Parte amorfa:** é uma gelatina formada principalmente por polissacarídeos e substâncias solúveis. Nesta parte, ocorre a difusão de substâncias (água, gases, nutrientes, excretas etc.). Também encontramos vários tipos celulares, como por exemplo: fibroblastos, células adiposas, macrófagos, plasmócitos, mastócitos;
- **Fibras:** são formadas por dois tipos de proteínas: fibras elásticas (dão elasticidade ao tecido e são formadas de elastina); e as fibras colágenas (dão resistência ao tecido e são formadas de colágeno) e reticulares (formam uma rede que dão apoio às células conjuntivas e são formadas de reticulina).

CURIOSIDADE

Fibroblastos

Os fibroblastos estão presentes e em atividade nos tecidos em desenvolvimento e no processo de cicatrização de feridas.

CONCEITO

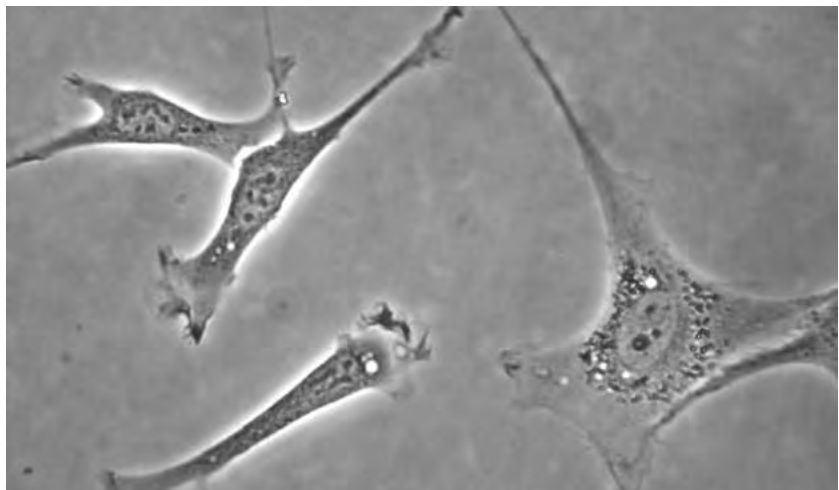
Células adiposas – células que armazenam gorduras.

Fibroblastos – células que produzem a substância intercelular e dão origem a outras células desse tecido.

Macrófagos – células que fagocitam micro-organismos.

Plasmócitos – células que fabricam anticorpos.

Mastócitos – células que produzem a histamina (substância vasodilatadora) e a heparina (substância anticoagulante).

Existem vários tipos de tecido conjuntivo e o material intercelular irá variar de acordo com o tecido em questão. De acordo com a estrutura e a função, os tecidos podem ser classificados em conjuntivo frouxo ou tecido conjuntivo propriamente dito, conjuntivo denso, cartilaginoso, ósseo e sanguíneo.

Tecido conjuntivo frouxo ou tecido conjuntivo propriamente dito

Possui uma pequena quantidade de fibras, o que proporciona uma consistência macia a este tecido. Está presente em praticamente todos os órgãos, preenchendo espaços, conectando diferentes partes do corpo e funcionando como reservatório de fluidos e sais.

É formado principalmente por três componentes principais: células, fibras e substância amorfa.

Os principais tipos celulares que formam este tecido são os ***fibroblastos*** e os **macrófagos**, seguidos pelos **plasmócitos**, **mastócitos** e **células adiposas.**

Os fibroblastos possuem a forma estrelada e o núcleo grande. São eles que produzem e secretam as proteínas, carboidratos e fibras da matriz extracelular. Quando maduros e sem atividade essas células são chamadas de fibrócitos.

Fibroblastos vistos sob microscópio.

Macrófagos são células grandes responsáveis pela limpeza e pela fagocitose de partículas estranhas (por exemplo: bactérias, restos de células mortas). Essas células identificam substâncias consideradas perigosas ao organismo, atuando na proteção imunológica.

Plasmócitos são células especializadas em produzir anticorpos com função de combater substâncias estranhas que penetram no tecido.

A ilustração descreve uma reação alérgica severa (anafilaxia) e a ação do **mastócito** liberando histamina para conter o distúrbio que pode ser de causa alimentar, medicamentosa etc.

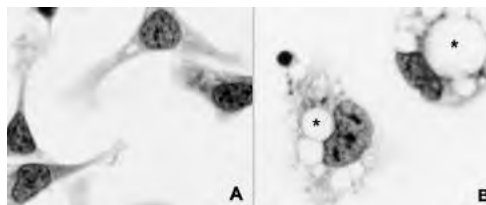
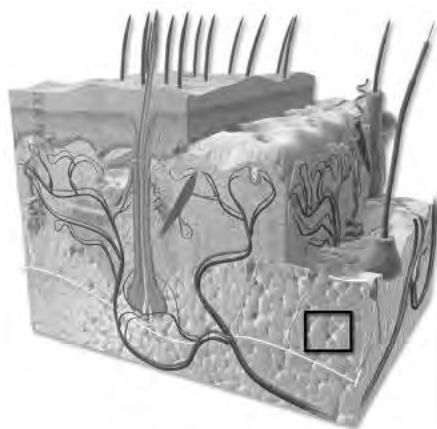



Imagem obtida por microscopia ótica de células peritoneais de camundongo corados com Giemsa. Estas imagens mostram a morfologia de macrófagos não estimulados (A) e estimulados com carragenina (B). Note um grande aumento no número de vacúolos (*) nos macrófagos estimulados com carragenina quando comparados com os macrófagos de animais normais.

Mastócitos são responsáveis por liberar a histamina (vasodilatador) durante processos alérgicos.

Células adiposas acumulam gorduras e formam o tecido adiposo que é um tipo especial de tecido conjuntivo frouxo. Essas células possuem um grande vacúolo central de gordura, que aumenta ou diminui, dependendo do metabolismo.

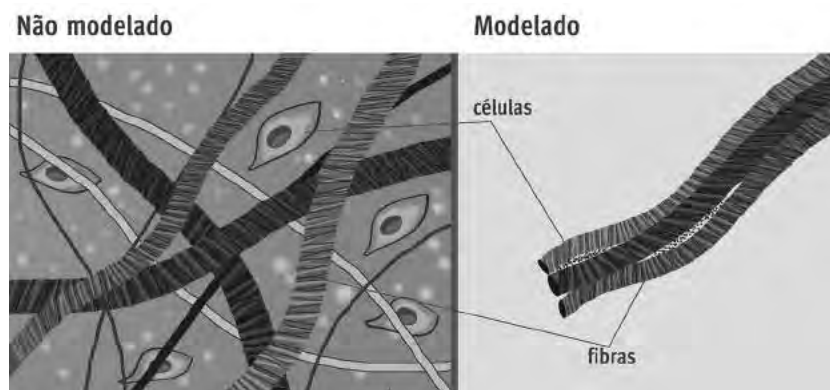
Ilustração representando tecido adiposo, com destaque nas células adiposas (adipócitos).

? CURIOSIDADE

Você já deve ter ouvido falar em celulite, fantasma que persegue muitas mulheres. Segundo o conceito mais aceito, a celulite é uma degeneração do tecido gorduroso com deficiência da circulação do mesmo. O acúmulo da gordura localizada em determinados locais é uma predisposição de cada pessoa. Em mulheres, essa gordura pode se acumular principalmente nos quadris e no abdômen e, nos homens, se acumula mais frequentemente no abdômen.

CONCEITO

Condrina

Condrina é uma substância mucopolissacarídea produzida e secretada pelos condroblastos (*chondros* = cartilagem e *blastos* = célula jovem).

REFLEXÃO

Quando uma pessoa come pouco ou gasta muita energia, a gordura das células adiposas diminui, caso contrário, ela se acumula. O tecido adiposo atua como reserva de energia para momentos de necessidade.

Identificamos, no tecido conjuntivo frouxo, três tipos de fibras: **colágenas**, **elásticas** e **reticulares** já descritas anteriormente.

Tecido conjuntivo denso

Este tecido caracteriza-se pela grande quantidade de fibras colágenas, que lhe dá grande resistência. A disposição das fibras faz com que este tecido seja classificado em fibroso ou não modelado e tendinoso ou modelado.

Esquema de tecido conjuntivo denso.

O tecido conjuntivo denso fibroso possui fibras entrelaçadas que conferem resistência e elasticidade a ele. Por não ter forma própria e sim a de um órgão que reveste também pode ser chamado de tecido conjuntivo denso não modelado.

O tecido conjuntivo denso modelado possui fibras que se orientam de forma paralela, o que o torna muito resistente, com pouca elasticidade. Este tecido forma os tendões que ligam os músculos aos ossos, e os ligamentos que ligam os ossos entre si.

Tecido conjuntivo cartilaginoso

Este tecido é composto principalmente de fibras colágenas e uma substância rica em proteínas que está associada a um tipo de glicídio chamado de ***condrina***.

Após a formação da cartilagem, a atividade dos condroblastos diminui, pois sofrem uma pequena retração de volume e essas células passam a ser chamadas de condrócitos.

O tecido cartilaginoso não possui vasos sanguíneos. O alimento e o oxigênio chegam por difusão a partir do tecido adjacente, que é o tecido conjuntivo propriamente dito (Pericôndrio).

O tecido cartilaginoso possui três tipos de cartilagem:

HIALINA	Responsável por formar o esqueleto cartilaginoso de embriões e recobrir a epífise dos ossos (região da articulação);
ELÁSTICA	Responsável por formar o pavilhão auricular e o septo nasal;
FIBROSA	Responsável por formar os discos intervertebrais.

? CURIOSIDADE

Fosfato de cálcio

Os cristais de fosfato de cálcio, associados às fibras, tornam os ossos mais duros do que as cartilagens.

Tecido ósseo

O tecido ósseo é considerado o tecido de sustentação nos vertebrados.

Mais duro e mais forte do que a cartilagem, os ossos possuem uma substância intercelular calcificada, formada por fibras colágenas e sais de cálcio, principalmente o ***fosfato de cálcio*** (hidroxiapatita).

As células ósseas em conjunto ficam alojadas em cavidades na matriz que rodeiam o canal de Havers. Os osteócitos formam camadas concêntricas em torno de cada canal. Os nutrientes se difundem do canal central através dos canalículos até as células.

Este tecido forma o esqueleto e é responsável pela sustentação do corpo e proteção de órgãos vitais.

O osso é formado de tecido ósseo compacto (não trabeculado) sendo revestido interna e externamente por um tecido conjuntivo denso, chamado periósteo.

Corte transversal de osso longo.

No tecido ósseo, existem células que se localizam em cavidades ou lacunas ligadas por canalículos. Estas células quando jovens chamam-se osteoblastos (*osteon*=osso; *blastos*=células jovens) e possuem longas projeções citoplasmáticas que se ligam a osteoblastos vizinhos.

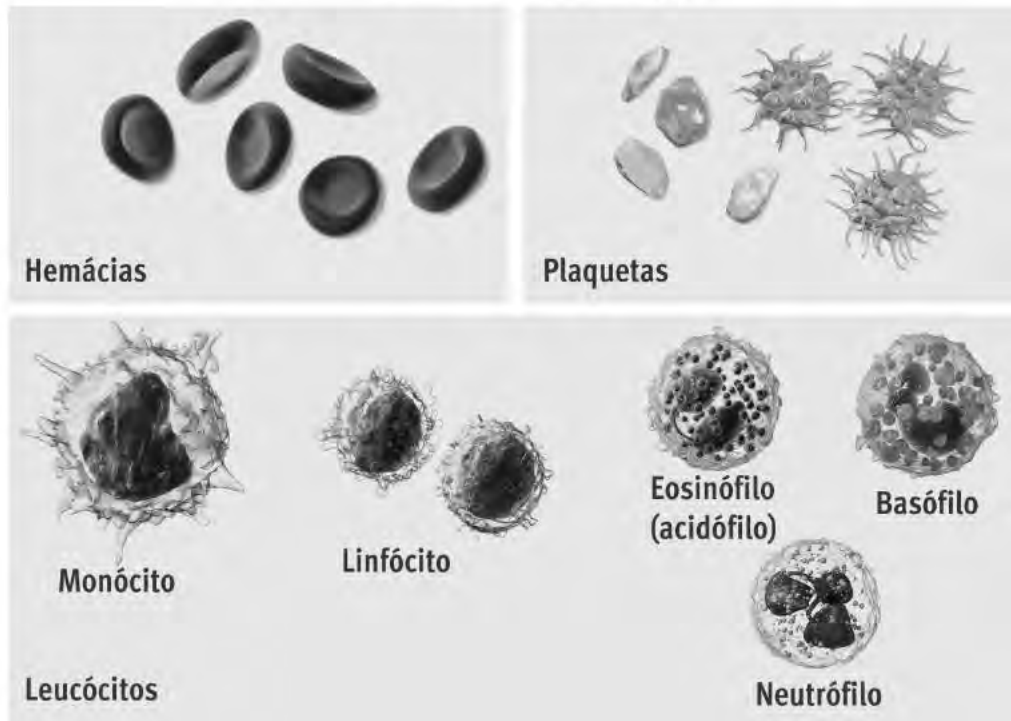
Formação Óssea

Os ossos podem ser formados por dois processos diferentes denominados ossificação:

OSSIFICAÇÃO ENDOCONDRAL	Ocorre dentro da cartilagem e consiste na substituição gradativa de tecido cartilaginoso por tecido ósseo. Neste processo, os osteoblastos substituem a cartilagem e promovem a impregnação das fibras da matriz com sais de cálcio (mineralização) e se diferenciam em osteócitos (células adultas);
OSSIFICAÇÃO INTRAMEMBRANOSA	Ocorre no processo de formação dos ossos achatados de nossa caixa craniana.

Os ossos podem ser remodelados através da atividade dos osteoclastos, que são células que absorvem a matriz óssea, formando verdadeiros buracos no tecido. Quando ocorre uma fratura, a atividade osteoclástica é ativada e os fragmentos ósseos são removidos. Com isso, podemos concluir que o tecido ósseo é extremamente ativo, sofrendo processos constantes de síntese (atividade realizada pelos osteoblastos) e degradação (ação dos osteoclastos).

? CURIOSIDADE

Quando um indivíduo nasce, o modelo de cartilagem já foi quase todo substituído pelo tecido ósseo. Entretanto, perto das extremidades dos ossos longos, a região cartilaginosa continua permitindo o crescimento longitudinal dos ossos.

Tecido sanguíneo

O sangue é considerado um tipo de tecido conjuntivo com a maior quantidade de substância intercelular líquida.

Chamamos plasma tal substância intercelular constituída de água, sais minerais e uma variedade de proteínas. Dentro do plasma encontramos as hemácias ou glóbulos vermelhos, os leucócitos ou glóbulos brancos e as plaquetas. Na figura a seguir podemos observar que os leucócitos (células brancas) possuem núcleo; as hemácias são anucleadas e possuem forma discoide e as plaquetas são elementos figurados que participam da coagulação sanguínea.

Esquema mostrando os elementos encontrados no sangue de seres humanos.

O sangue tem a função de transportar o gás oxigênio e o alimento para as células do corpo e retirar o gás carbônico e excreções. Os hormônios produzidos pelas glândulas endócrinas chegam às células através do sangue. O sangue também é responsável por proteger o corpo contra a invasão de agentes infecciosos.

Tecido muscular

É um tecido formado de células alongadas chamadas fibras que são originadas da mesoderme e ricas em miofibrilas de proteína. Essas células possuem a capacidade de contração do tecido muscular e são responsáveis pelo movimento e pelas atividades de certos órgãos, como por exemplo, do útero, do intestino e do coração.

Existem três tipos de tecido muscular :

- TECIDO MUSCULAR LISO
- TECIDO MUSCULAR ESQUELÉTICO ESTRIADO
- TECIDO MUSCULAR CARDÍACO

Cada um possui características próprias correspondentes às funções que desempenham no organismo. O nosso corpo é formado por 40% de músculo esquelético e 10% de músculo cardíaco e liso.

CONCEITO

Miofibrilas

Miofibrilas são organelas em forma de tubo dispostos em feixes longitudinais presentes no citoplasma das células musculares e responsáveis pela capacidade de contração.

CURIOSIDADE

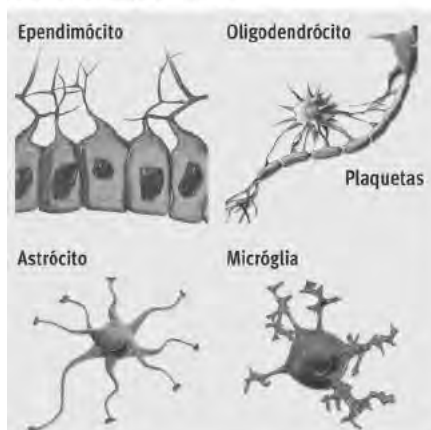
Os exercícios físicos não aumentam o número de fibras musculares. O que pode aumentar é o número de *miofibrilas* por célula, e com isso aumentar o tamanho e a força dos músculos.

Tecido nervoso

Como os seres vivos reagem a estímulos ambientais?

Quando há alterações no ambiente, tais como sons, choques, calor e frio, nosso organismo percebe e reage de acordo com a situação em questão. Apesar de os músculos responderem aos estímulos, é o tecido nervoso o responsável por sua recepção e escolha da resposta adequada.

O sistema nervoso é formado basicamente por dois tipos celulares:

NEURÔNIOS

CÉLULAS GLIAIS

Os neurônios sempre foram tidos como a unidade básica, estrutural e funcional do sistema nervoso. As células gliais são potenciais células-tronco do sistema nervoso, tanto do sistema nervoso embrionário, em desenvolvimento, quanto do sistema nervoso adulto. São células capazes de modular a sinapse, que é a unidade estrutural de comunicação do sistema nervoso. Então, hoje se sabe que sem as células gliais grande parte das sinapses não funcionaria. Sabe-se também que os neurônios precisam ficar em regiões específicas do cérebro, caso contrário não se comunicam. A determinação de onde esses neurônios devem ficar é feita por um tipo específico de célula glial que auxilia a sua migração. Essas células também estão envolvidas na resposta inflamatória do sistema nervoso.

Representação gráfica de alguns tipos de células gliais.

Os neurônios são formados pelo corpo celular, dendritos e axônios. O corpo celular é formado pelo núcleo

e muitas organelas citoplasmáticas, como o retículo endoplasmático, o aparelho de Golgi e os ribossomos. Os dendritos são prolongamentos celulares que partem do corpo celular e são responsáveis pela recepção dos estímulos externos ou de estímulos que vêm de outros neurônios. O axônio é um prolongamento longo que parte do corpo celular conduzindo estímulos para fora do neurônio, podendo ser para músculos ou outras células nervosas. A extremidade do axônio é geralmente ramificada, fazendo com que um impulso possa ser transmitido simultaneamente a vários destinos.

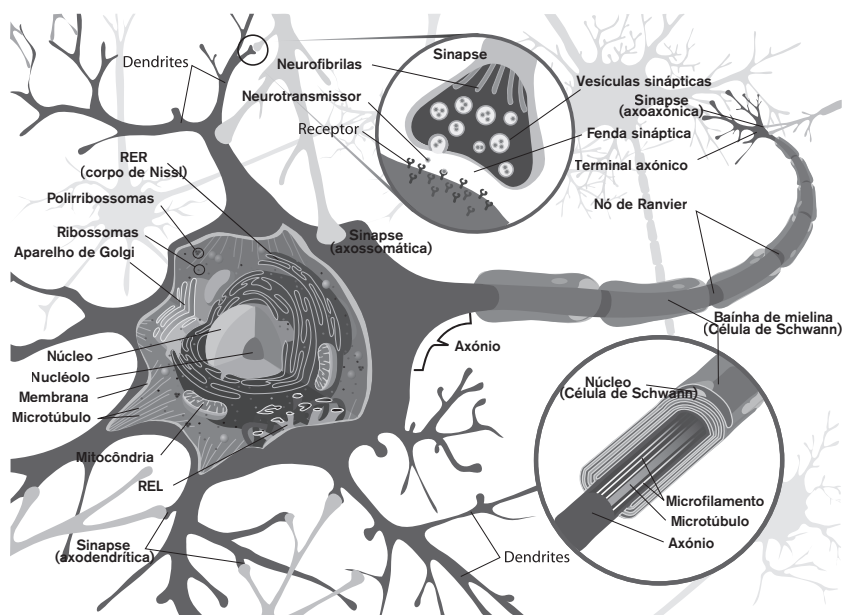



Diagrama completo de um neurônio.

Os olhos funcionam como ***receptores*** de estímulos captando luz, enquanto os ouvidos reagem a ondas sonoras.

Câncer

REFLEXÃO

Você já parou para pensar o que é câncer e como ele pode se desenvolver em nosso corpo?

Atualmente, o ***câncer*** é considerado um dos problemas mais complexos que o nosso sistema de saúde pública enfrenta.

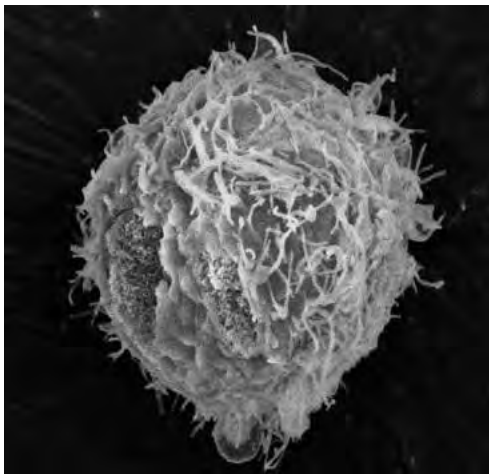
A seguir vemos a imagem uma célula cancerígena obtida com auxílio de um microscópio de varredura.

REFLEXÃO

A função e a disfunção das células gliais têm um papel essencial no desenvolvimento do sistema nervoso, no aparecimento de doenças que o acometem e também na regeneração e reestruturação do mesmo.

CONCEITO

Receptores

Estruturas que captam estímulos do ambiente.

CONCEITO

Câncer

Câncer é o nome dado há um conjunto de mais de cem doenças. Nessas doenças, as células crescem desordenadamente e podem invadir tecidos e órgãos vizinhos.

A palavra câncer tem origem grega – *karkinos* – que significa caranguejo. É uma doença considerada antiga, já que foi detectada três mil anos antes de Cristo em múmias egípcias.

Célula cancerígena

O câncer e o crescimento celular

Como vimos anteriormente, os tecidos do corpo humano são formados por células consideradas normais que se multiplicam continuamente. Naturalmente, a maioria das células cresce, multiplica-se e morre. Entretanto, algumas células nunca se dividem, como por exemplo, os neurônios; enquanto outras se dividem de forma rápida e contínua, dependendo das necessidades do organismo, como acontece no tecido epitelial.

Quando podemos considerar que uma célula está crescendo desordenadamente?

As células cancerosas crescem de maneira diferente das células normais, pois elas não morrem, no entanto, continuam crescendo desordenadamente, formando novas células anormais. Quando ocorre esse crescimento considerado anormal, a divisão acontece de forma muito rápida, até mesmo agressiva e incontrolável podendo se espalhar para outras regiões do organismo.

O câncer é caracterizado pela perda de controle no processo de divisão celular e na sua capacidade de invadir outras estruturas diferentes da original.

A proliferação celular no câncer pode ser de dois tipos:

CRESCIMENTO CONTROLADO

As células podem aumentar de número em um determinado local ou podem ter um crescimento considerado autolimitado, quando sofrem estímulos fisiológicos ou patológicos. Neste tipo de crescimento, as células podem ser normais ou podem ter alterações na sua forma e função, podendo ser iguais ou diferentes do tecido no qual irão se instalar. O efeito pode ser revertido quando o estímulo cessar.

EXEMPLO

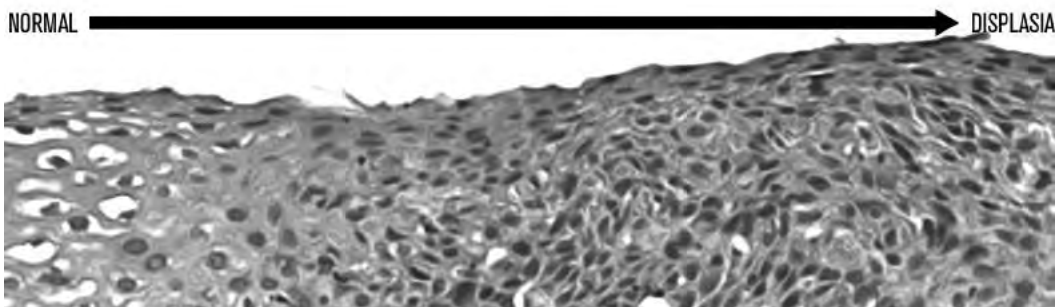
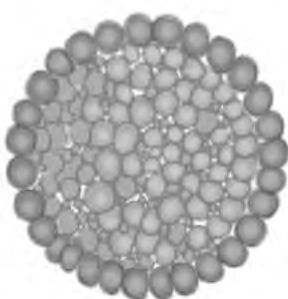
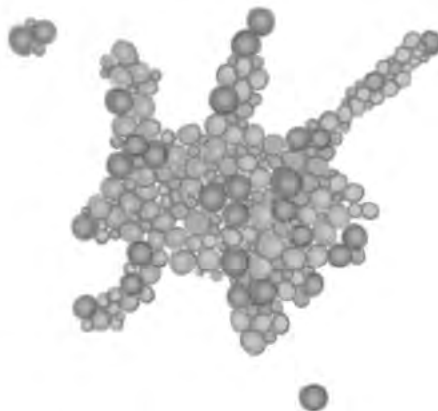
Hiperplasia, Metaplasia e Displasia.

NORMAL → DISPLASIA

Imagem microscópica mostrando displasia cervical, definida como alteração anormal na camada de células externa da cérvix uterina (colo do útero).

CRESCIMENTO NÃO CONTROLADO

As células formam uma massa anormal de tecido. Possuem um crescimento autônomo, pois podem continuar proliferando mesmo quando o estímulo cessa.

EXEMPLO

Neoplasias ou Tumores

As neoplasias podem ser malignas ou benignas. Na figura a seguir, observamos uma organização no crescimento de tumores benignos e uma desorganização quanto ao crescimento de tumores malignos.

Tumor benigno **Tumor maligno**

Esquema mostrando a diferença entre os tumores benignos (crescimento de forma organizada) e malignos (crescimento desorganizado).

Nas neoplasias benignas também chamadas de *tumores benignos*, o crescimento ocorre de forma organizada e lenta. Apresentam limites visíveis, não invadindo tecidos vizinhos, mas, algumas vezes, podem comprimir órgãos e tecidos adjacentes. Nas neoplasias malignas ou *tumores malignos*, é observado um maior grau de autonomia quando comparados com os tumores benignos. Suas células invadem os tecidos vizinhos e provocam metástases, sendo, na maioria das vezes, resistente ao tratamento e podendo causar a morte do ser vivo atingido.

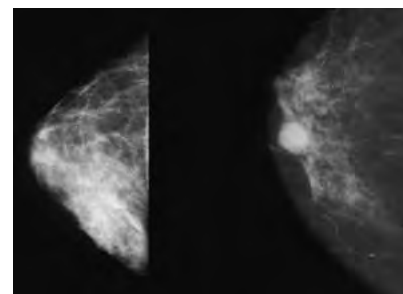
Formação do câncer

Quando uma célula normal sofre mutação em seus genes, ou seja, apresenta alterações em seu DNA, ela começa a receber informações erradas do que deve fazer.

Essas alterações podem ser espontâneas ou provocadas por agentes considerados cancerígenos podendo não alterar seu desenvolvimento normal. Quando essas alterações atingem proto oncogenes – genes especiais que podem se transformar em oncogenes – pode ocorrer a ma-

EXEMPLO

Tumores benignos

Adenoma – Tumor benigno das glândulas.

Lipoma – Tumor benigno com origem no tecido gorduroso.

Mioma – Tumor benigno que tem origem no tecido muscular liso.

EXEMPLO

Tumores malignos

Mamografia mostrando um seio com células saudáveis (esq.) e um seio com células cancerosas.

CONCEITO

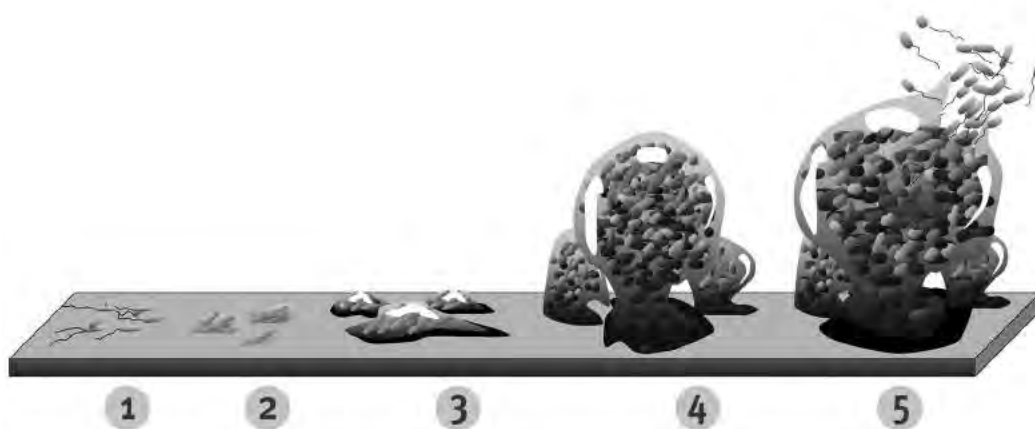
Carcinogênese ou oncogênese

Processo de formação do câncer.

lignização (cancerização) de células que eram consideradas normais. Essas células passam a ser consideradas células cancerosas.

Como as células se comunicam para a formação do câncer?

O processo de ***carcinogênese*** ou oncogênese é lento podendo durar muitos anos até que uma célula se prolifere e origine um tumor visível. O acúmulo de diferentes agentes, durante um determinando período que podem causar um câncer, pode ser responsável pelo início, promoção, desenvolvimento e até mesmo inibição do tumor. Os efeitos desses agentes e o tempo também devem ser levados em consideração, pois poderão determinar as características de cada tipo de câncer e o dano celular que irão provocar.

O PROCESSO DE FORMAÇÃO DE TUMORES MALIGNOS TEM TRÊS ESTÁGIOS:	
Estágio de iniciação	Os genes sofrem ação dos agentes cancerígenos;
Estágio de promoção	Os agentes que promovem alterações nos oncogenes atuam na célula que já sofreu alterações anteriores;
Estágio de progressão	Ocorre uma multiplicação sem controle e irreversível da célula atingida.

! ATENÇÃO

Alguns tipos de câncer podem ser detectados precocemente, durante seu desenvolvimento, tratados e até mesmo curados. Mesmo em pacientes com doença em estágio avançado, os sintomas podem ser minimizados, e, tanto os pacientes quanto os seus familiares, podem receber ajuda e cuidados.

Biofilmes microbianos

Bactérias são organismos com estruturas mais simples — procariontes — que, na maioria, vivem em comunidades, possuindo uma grande ou pequena organização. Atualmente, sabemos que suas comunidades possuem diferentes graus de complexidade, podendo formar o que chamamos de biofilme, quando estão associadas a diferentes superfícies. É um ecossistema estruturado e dinâmico, funcionando de maneira coordenada.

DESENVOLVIMENTO DE UM BIOFILME	
1	Colonização primária de um substrato.
2	Crescimento e divisão celular. Pode haver produção de um exopolissacarídeo (EPS), com o desenvolvimento de microcolônias.
3	Maturação.
4	Há uma coadesão de células individuais, de células coagregadas e grupos de células idênticas, originando um biofilme jovem, de múltiplas espécies.
5	Dispersão.

Na formação de um biofilme primeiro ocorre uma fixação das bactérias em um substrato para que a colonização seja iniciada.

O tempo de formação de um biofilme envolve diversas etapas, podendo encontrar diferentes denominações para esses organismos, como:

COLONIZADORES PRIMÁRIOS	Aderem-se a uma superfície, geralmente contém proteínas ou outros compostos orgânicos. As células quando aderidas passam a se desenvolver, originando microcolônias capazes de sintetizar uma matriz externa formada de polissacarídeos – exopolissacarídeo (EPS);
COLONIZADORES SECUNDÁRIOS	Possuem um substrato formado por colonizadores primários. Aderem diretamente aos primários, ou promovem a formação de seres agregados a outros micro-organimos podendo estar aderidos aos primários.

CURIOSIDADE

Os biofilmes podem promover doenças quando estão formados em tecidos, tais como nas infecções pulmonares provocadas por *Pseudomonas aeruginosa,* em pacientes com fibrose cística, que são suscetíveis a infecções crônicas por esta bactéria. A periodontite é outro exemplo de doença provocada por biofilmes.

Com base em dados encontrados na literatura, podemos concluir que o biofilme corresponde a uma "entidade" dinâmica dependendo dos microrganismos que o formam. A partir daí, observamos condições físicas, químicas e biológicas diferentes. Isso mostra que cada biofilme é único, pois dependerá do microrganismo que eles revelam e apresentará comportamentos diferentes.

Comportamento coletivo

Para se formar um biofilme há necessidade da presença de uma ou várias espécies, e que seja estabelecido um comportamento multicelular, refletindo em atividades coordenadas de interação e comunicação dos vários organismos.

Comunidades associadas às superfícies

Neste tipo de comunidade, os procariotos podem se adequar a muitas formas de vida superiores. Isto se deve a sua grande diversidade metabólica e a plasticidade fenotípica que possuem podendo migrar para diferentes nichos e se propagar para diferentes ambientes.

EXEMPLO

Algumas espécies podem sintetizar celulose, originando uma película que mantém as células próximas à interface ar/água, ou na superfície de plantas.

Um mecanismo importante, na formação de comunidades, está ligado à agregação ou à aderência permitindo que ocorram interações celulares. As comunidades bacterianas participam da produção e degradação de matéria orgânica, por exemplo, dentro do organismo humano; da degradação de poluentes; e até mesmo na reciclagem de nitrogênio, enxofre e vários metais.

ATENÇÃO

Uma imensa quantidade de doenças infecciosas vem sendo tratada com antibióticos. Entretanto, pesquisas recentes mostram que este método pode não ser tão eficaz em algumas situações, na qual ocorra resistência dos organismos à droga que está sendo utilizada, ou até mesmo quando as bactérias formam biofilmes, onde se tornam até mil vezes mais resistentes. Infecções associadas a biofilmes geralmente são de natureza recorrente. Como exemplos, podemos citar as infecções provocadas por implantes de válvulas cardíacas e lentes de contato.

Comunicação, reconhecimento e sinalização

A ***sinalização celular*** é essencial para que as células decodifiquem seu ambiente e é fundamental em todos os tipos celulares: de procariotos a eucariotos, incluindo células animais e vegetais.

Há diversos sinais que podem iniciar a sinalização intracelular, como estímulos físicos (exemplo: luz), patógenos, neurotransmissores, hormônios, temperatura, moléculas sinalizadoras na membrana de outras células e matriz extracelular. Os sinais intercelulares são interpretados por uma complexa maquinaria da célula que responde a eles.

Quando não há um controle na divisão celular, pode haver a formação de um câncer.

Isto leva as células a determinar sua posição e função especializada no organismo garantindo, por exemplo, que cada célula somente se divida quando as células vizinhas lhe ordenarem.

ATENÇÃO

Em organismos multicelulares, a troca de informações se dá por meio de moléculas, sinais ou mensageiros químicos caracterizando a comunicação ou sinalização celular.

A ***membrana plasmática*** funciona como uma barreira para substâncias hidrofílicas, composta por uma bicamada de lipídios associada a proteínas e hidratos de carbono, como pode ser visto na figura a seguir.

Esquema mostrando que a membrana plasmática é formada por uma bicamada lipídica associada a proteínas e hidratos de carbono.

A Membrana Plasmática possui diversas funções tais como:

- Proteção;
- Regulação do transporte para dentro e fora da célula;

CONCEITO

Sinalização celular

Sinalização celular é um complexo sistema de comunicação que governa e coordena as atividades e funções celulares.

CONCEITO

Membrana plasmática

Membrana plasmática ou celular é uma película que delimita a célula, separando o meio intracelular do meio extracelular. Essa estrutura controla a entrada e a saída de substâncias da célula, sendo responsável pela manutenção do equilíbrio do meio intracelular que é diferente do meio extracelular.

- Reconhecimento celular;
- Formam junções especializadas que permitem a adesão e a comunicação celular;
- Permite o movimento direto da célula e de organelas.

Com estas importantes funções, as membranas celulares permitem que a água e pequenas moléculas apolares, como o oxigênio e o gás carbônico, atravessem de uma maneira simples. Mas para que as células possam capturar nutrientes e liberar resíduos, as membranas têm de permitir a passagem de outras moléculas, como íons, açúcares, aminoácidos e nucleotídeos. Essas moléculas cruzam as bicamadas lipídicas lentamente com ajuda de proteínas transportadoras especializadas.

Na superfície das células, existe uma camada de carboidratos, que se une a proteínas (glicoproteínas) e lipídios (glicolipídios) que se chama glicocálice. Essa malha de moléculas de carboidratos entrelaçados envolve as células.

As principais funções do glicocálice são:

- Proteção física e química;
- Retenção de nutrientes e enzimas;
- Manutenção de um microambiente em ótimas condições ao redor da célula;
- Reconhecimento celular.

As moléculas sinalizadoras extracelulares são reconhecidas por receptores específicos localizados na superfície ou no citoplasma das células-alvo.

EXEMPLO

Leveduras se comunicam umas com as outras para conseguir se reproduzir através da secreção de diversos pequenos peptídeos. Já as células de animais superiores comunicam-se através de centenas de tipos de moléculas de sinalização, como proteínas, pequenos peptídeos, aminoácidos, nucleotídeos, esteroides, retinoides, derivados de ácidos graxos e, ainda, gases como óxido nítrico e monóxido de carbono.

Muitas das moléculas sinalizadoras, citadas no exemplo anterior, são secretadas por células sinalizadoras por exocitose, outras podem ser liberadas por difusão através da membrana plasmática, enquanto algumas permanecem firmemente ligadas à superfície celular, influenciando as células somente quando entram em contato direto com as células sinalizadoras.

Esquema mostrando a sinalização intercelular em animais. Independente da natureza do sinal, a célula-alvo responde por intermédio de uma proteína específica denominada receptor. A mesma liga-se especificamente à molécula sinalizadora e então desencadeia uma resposta na célula-alvo.

Na maioria dos casos, os receptores são proteínas transmembranares da célula-alvo que quando se ligam a uma molécula sinalizadora extracelular (um ligante), tornam-se ativadas e são capazes de gerar uma cascata de sinais intracelulares que alteram o comportamento da célula. A maioria das moléculas sinalizadoras não pode atravessar a membrana plasmática. Com isso, se fixam aos receptores da superfície celular, gerando um ou mais sinais no interior da célula. Em alguns casos, os receptores estão localizados no interior da célula-alvo, e o ligante sinalizador necessita penetrar na célula para que haja sua ativação. Para que isso aconteça, essas moléculas devem ser pequenas e hidrofóbicas para se difundirem através da membrana plasmática.

A ***comunicação celular*** tem como base o reconhecimento de uma molécula sinalizadora (molécula informacional) por uma proteína receptora. Para que ocorra a formação dos tecidos, multiplicação celular, fagocitose, síntese de anticorpos, atração de leucócitos para defesa, coordenação do metabolismo e muitas outras atividades celulares é essencial que haja troca de sinais químicos entre as células. Uma única célula ou organismos multicelulares necessitam sentir e responder ao seu ambiente. A troca de sinais químicos entre as células regula quase todas as funções celulares. A molécula sinalizadora é denominada ligante, e a molécula celular que se prende ao ligante e possibilita a resposta chama-se receptor. A ação de estimular no meio exterior à célula é denominada indução. A célula indutora produz o ligante e a célula que o recebe é denominada célula induzida ou célula-alvo.

? CURIOSIDADE

Comunicação celular

Na Suécia, em 07 de outubro de 2013, o reconhecimento do tráfego de vesículas reguladoras dentro das células foi prêmio Nobel na categoria Fisiologia ou Medicina, no Instituto Karolinska. Com isso, os norte-americanos James Rothman (1), da Universidade de Yale; Randy Schekman (2), da Universidade da Califórnia, em Berkeley; e o alemão radicado nos Estados Unidos, Thomas Südhof(3), da Universidade de Stanford; mostraram que não existe comunicação dentro das células ou entre elas sem a ação de vesículas que transportam substâncias específicas, como enzimas, hormônios ou neurotransmissores, ao local exato e quando devem atuar nas células.

Para que ocorra o perfeito funcionamento do organismo é necessário que ocorra a fusão dessas vesículas às membranas celulares para transferir sua carga para fora ou para dentro das células, ou para alguma estrutura celular específica. Algumas moléculas, como a insulina, necessitam ser exportadas para fora da célula, contudo outras necessitam ser transportadas para locais específicos dentro da célula, por exemplo.

As moléculas secretadas medeiam três formas de sinalização:

ENDÓCRINA	PARÁCRINA	SINÁPTICA

Comunicação endócrina

Possibilita a ligação de células distantes por meio de sinais químicos.

EXEMPLO

Hormônios atingem a célula-alvo por meio da circulação sanguínea. O sistema endócrino é um mecanismo complexo que coordena e regula a comunicação entre as células, constituído pela combinação de glândulas e hormônios, sendo responsável, por exemplo, pela reprodução, desenvolvimento embrionário, crescimento e metabolismo. Ao se combinarem aos respectivos hormônios, os receptores são capazes de acionar mecanismos intracelulares aumentando a concentração de cálcio. Já os hormônios lipossolúveis como os hormônios esteroides (estrógenos, progesterona, testosterona, T3 e T4) que são aminoácidos modificados, conseguem atravessar a membrana celular com facilidade e penetrar na célula, agindo em receptores específicos localizados no citoplasma e no núcleo.

Comunicação parácrina

Moléculas sinalizadoras secretadas por uma célula podem atuar em alvos distantes ou agirem como mediadores locais, atuando somente nas células vizinhas.

ATENÇÃO

Para que os sinais parácrinos sejam liberados somente para suas células-alvo específicas, as moléculas sinalizadoras secretadas não devem se difundir para muito longe sendo captadas rapidamente pelas células-alvo vizinhas, destruídas por enzimas extracelulares ou ainda imobilizadas na matriz extracelular. Em um organismo multicelular complexo, sinalização de curto alcance não é suficiente por si só, para coordenar o comportamento das células de um organismo.

EXEMPLO

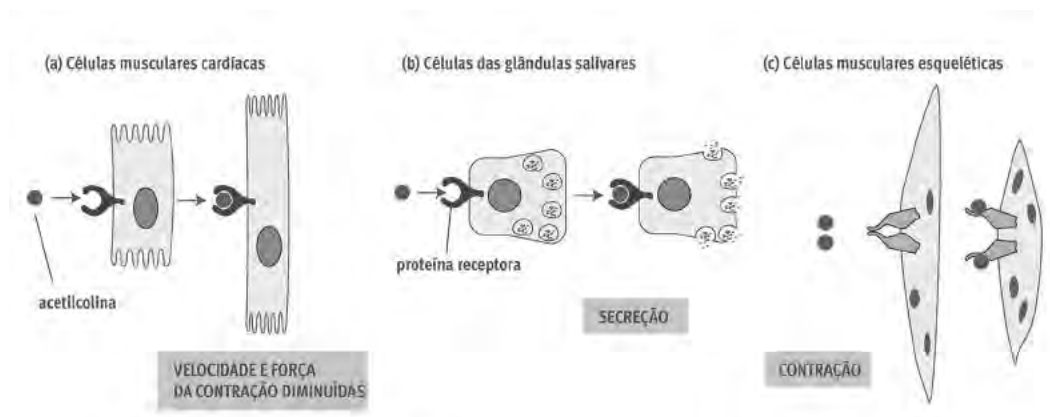
Células endoteliais – musculatura lisa vascular, onde o óxido nítrico atua como modulador do tônus. Neste caso, a molécula sinalizadora tem vida curta e o receptor está na própria célula que emitiu o sinal. Podemos comparar este tipo de comunicação ao nosso dia a dia quando colocamos um bilhete para nós mesmos a fim de não nos esquecermos de fazer alguma coisa, ou quando anotamos um compromisso na agenda, ou até mesmo colocamos um despertador para tocar na hora que queremos acordar.

Comunicação sináptica

Funciona de maneira semelhante à parácrina, ocorre entre células próximas. A diferença está no tipo de ligação, pois liga uma célula nervosa a outra, ou a uma célula muscular.

ATENÇÃO

Os neurotransmissores fazem com que os impulsos nervosos de uma célula influenciem nos impulsos nervosos de outro, permitindo assim que as células do cérebro "se comuniquem entre si". O corpo humano possui um grande número desses mensageiros químicos para facilitar a comunicação interna e a transmissão de sinais dentro do cérebro. O sistema nervoso controla e coordena as funções corporais permitindo assim que o corpo responda aos estímulos. As terminações nervosas fazem contato com sua célula-alvo através de junções celulares especializadas, denominadas sinapses, as quais são projetadas para assegurar que o neurotransmissor seja liberado à célula-alvo pós-sináptica rápida e especificamente.

EXEMPLO

No quadro abaixo, veremos algumas moléculas sinalizadoras:

MOLÉCULA SINALIZADORA	NATUREZA QUÍMICA	ALGUMAS AÇÕES
	HORMÔNIOS	
Adrenalina	Derivado do aminoácido tiroxina	Aumenta a pressão arterial, ritmo cardíaco e metabolismo.
Insulina	Proteína	Estimula a captação de glicose, síntese de proteínas e de lipídios nas células hepáticas.
	MEDIADORES LOCAIS	
Fator de crescimento da epiderme (EGF)	Proteína	Estimula a proliferação de células epidérmicas e de muitos outros tipos celulares.
	NEUROTRANSMISSORES	
Acetilcolina	Derivado da colina	Neurotransmissor excitatório em muitas sinapses nervo-músculo e no sistema nervoso central.
	MOLÉCULAS DE SINALIZAÇÃO DEPENDENTES DE CONTATO	
Delta	Proteína transmembranar	Inibe células vizinhas de se tornarem especializadas como a célula sinalizadora.

A resposta que a célula dará dependerá do receptor que ela possui para a molécula sinalizadora, de acordo com sua função especializada. Através dos receptores, a célula restringe a gama de sinais que podem afetá-la. Os efeitos provocados na célula-alvo podem ser alteração

de forma, movimento, metabolismo, e até mesmo expressão gênica. A presença de receptores é muito importante para a interação da célula com o meio em que se encontra. Desta forma, todos os grupos celulares conhecidos possuem moléculas receptoras de alguma natureza.

Uma mesma molécula sinalizadora pode produzir respostas diferentes em células-alvo diferentes. Veja o esquema a seguir:

Tipos diferentes de receptores geram sinais intracelulares diferentes em diferentes tipos celulares (cardíacas, salivares, musculares esqueléticas). Observe que, na fibra muscular cardíaca, a velocidade e a força de contração apresentam-se diminuídas; nas células das glândulas salivares há produção de secreção e nas células musculares ocorre contração das mesmas.

Existem situações em grupos celulares que necessitam de uma maior comunicação entre as células adjacentes. Dentre elas, podemos citar a proteção contra organismos causadores de doenças e uma troca simples de substâncias entre células vizinhas.

Comunicação por moléculas de sinalização

Existem moléculas que podem pertencer a várias famílias de substâncias bioquímicas diferentes sendo consideradas moléculas mensageiras entre duas células que não necessitam estar ligadas entre si.

FAMÍLIAS DAS MOLÉCULAS DE SINALIZAÇÃO
Neurotransmissores;
Hormônios e neuro-hormônios;
Citocinas;
Imunoglobulinas;
Eicosanoides (derivados do ácido aracdônico);
Gases (NO, CO).

A troca de informações que ocorre entre as células pode determinar o condicionamento e a regulação do funcionamento dos órgãos, promovendo a homeostasia de todo o organismo. Esta homeostasia é consequência da ação de diversos receptores distribuídos nos vários compartimentos orgânicos. As respostas celulares obtidas geralmente são diferentes, e podem acontecer em locais distintos dependendo da natureza química das moléculas de sinalização.

CONCEITO

As moléculas são classificadas em:

Hidrossolúveis

Moléculas pequenas com origem nos aminoácidos - catecolaminas ou peptídeos - moléculas de grande peso molecular.

Lipossolúveis

Moléculas de pequeno tamanho capazes de atravessar por difusão a membrana celular sendo derivadas do colesterol, de aminoácidos (tireoideos) ou compostos gasosos (NO e CO).

O reconhecimento de uma determinada substância é feito através dos receptores localizados na membrana celular, no citosol ou no núcleo, em resposta a uma determinada molécula sinalizadora.

Na fase final da divisão celular de células animais há uma individualização, havendo necessidade de um trabalho conjunto entre as células de um epitélio ou de um órgão. A comunicação celular através de junções faz com que ocorra a troca de informações, ancoragem, seleção do trânsito extracelular, de sincronização de processos como a absorção, secreção ou contração, entre outros. As junções celulares em células animais podem ser classificadas em ancoradouras, comunicantes ou bloqueadoras. Nos processos de multiplicação e morte programada, essas junções são desfeitas.

Quando relacionamos sinalização celular e sistema nervoso central falamos também das vias de sinalização intracelular até a regulação da transcrição gênica, assim como interações entre receptores e alguns sistemas de neurotransmissão. Neste contexto, também podemos citar alguns fatores que modulam a resposta final, particularmente no que diz respeito à regulação neural da pressão arterial.

ATENÇÃO

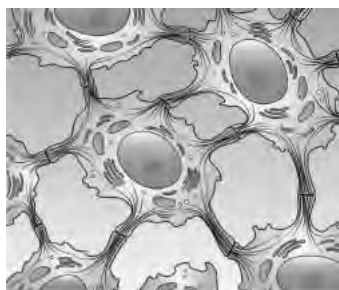
Para que o transmissor tenha sucesso na transmissão da informação para as células, é necessário que haja interação deste com seu receptor específico. Existem quatro tipos principais de receptores:

IONOTRÓPICOS	METABOTRÓPICOS	ACOPLADOS A ENZIMAS (COMO A TIROSINA-QUINASE)	INTRACELULARES

? CURIOSIDADE

Receptores

Existem poucos estudos filogenéticos com ênfase nos diversos tipos de receptores. Sabe-se que receptores ionotrópicos estão presentes em células pertencentes aos três grupos filogenéticos (eucariontes, bactérias e arqueobactérias). Os estudos da evolução de receptores metabotrópicos restringem-se a poucos trabalhos que demonstraram proteínas com sete domínios transmembrânicos e que se utilizam de fosforilação para transmitir o sinal, análogas aos receptores acoplados à proteína G, identificadas em protozoários e em metazoários ancestrais.

A forma de ação destes receptores pode variar:

1	Os receptores ionotrópicos são mais rápidos, podendo atuar na despolarização celular e modulando a transcrição gênica;
2	Os receptores acoplados à proteína G (metabotrópicos) desencadeiam cascatas intracelulares envolvendo a adenilil ciclase ou a fosfolipase C;
3	Os receptores associados a enzimas, com atividade enzimática intrínseca ou acoplados à tirosina quinase, também podem desencadear cascatas intracelulares podendo fosforilar as MAP quinases e agir sobre fatores de transcrição;
4	Os receptores intracelulares são ativados por substâncias capazes de atravessar a membrana citoplasmática como os estrógenos e o óxido nítrico.

Todos esses ***receptores*** podem atuar tanto na resposta rápida, que é responsável pela despolarização celular, e/ou agir em respostas que serão dadas, através de regulação da transcrição gênica, por meio dos fatores de transcrição.

A eficiência da transmissão do estímulo depende da localização dos receptores. Também podemos citar os receptores na membrana pós e pré-sináptica, além dos já mencionados intracelulares. Os receptores na membrana pós-sináptica podem transmitir a resposta ao núcleo das células, regular a atividade de receptores vizinhos e/ou regular a despolarização neuronal.

Comunicação por contato direto:

A membrana plasmática possui estruturas especializadas que ligam células dentro de um tecido, ou órgão, com outras células (junções intercelulares) e com a matriz extracelular (junções célula matriz) denominadas junções celulares.

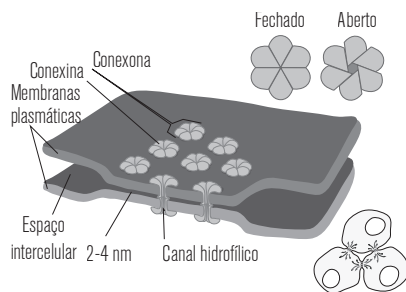
A imagem nos mostra uma junção desmossoma entre as células da camada epidérmica da pele.

As junções comunicantes entre as células permitem a passagem direta de moléculas pequenas entre as células, como por exemplo: eletrólitos. As junções celulares presentes na membrana plasmática (desmossomos, junções oclusivas e junções comunicantes) são responsáveis pelas funções de comunicação e adesão celular.

De acordo com sua estrutura, as junções intercelulares podem ser classificadas em:

JUNÇÃO DE OCLUSÃO (*ZONULA OCCLUDENS* OU *TIGHT JUNCTION*)	Forma compartimentos com as membranas epiteliais que revestem as diferentes regiões do corpo.
JUNÇÃO ADERENTE (*ZONULA ADHERENS*)	Neste local observa-se uma forte adesão entre células e seu substrato.
DESMOSSOMOS (*MACULAE ADHERENS*)	Tipo de junção de adesão.
JUNÇÃO COMUNICANTE (*NEXUS* OU *GAP JUNCTION*)	Facilita a comunicação intercelular direta.

Quando nos referimos à matriz extracelular, temos as junções célula-matriz, que podem ser divididas em dois tipos: junção de adesão focal e hemidesmossomo.

Existem três tipos principais de junções celulares:
Junções de ancoragem: Junções aderentes, desmossomos e hemidesmossomos.
Junções gap (junções comunicantes).
Junções apertadas (junções de oclusão).
No esquema ilustrado, podemos ver três tipos de junções celulares:
1 - junção de oclusão
2 - junção comunicante
3 - desmossomo

As junções GAP possuem papel fundamental na manutenção da homeostasia, morfogênese, diferenciação celular e controle de crescimento nos organismos multicelulares, por isso falaremos mais sobre ela.

GAP junctions

São conhecidas como junções de comunicação célula–célula consistindo em proteínas multiméricas, chamadas conexinas. Mediam a troca de metabólitos de baixo peso molecular e íons entre as células de contato.

Representação gráfica de uma célula de união gap

Quando a sinalização está relacionada à conexina há o envolvimento de uma sinalização extracelular – *hemichan-nels* e outra intracelular denominada *non-channel intracellular signaling*. Durante o desenvolvimento embrionário, também encontramos as junções GAP que podem ser monitoradas através da implantação de microeletrodos para detectar o movimento de íons através das células. Outro mecanismo, que podemos utilizar para esse

estudo é a microinjeção de corantes fluorescentes de pequeno peso molecular, tais como *Lucifer yellow*. Este corante é muito utilizado para observações dentro e em volta da célula.

As células possuem glicoproteínas transmembranares denominadas moléculas de aderência, que pertencem a cinco grandes famílias diferentes:

- INTEGRINAS
- CADERINAS
- SELECTINAS
- IMUNOGLOBULINAS
- MOLÉCULAS RICAS EM LEUCINA

A desativação de vias de sinalização é tão importante quanto sua ativação. Os componentes que foram ativados em uma via devem ser subsequentemente inativos ou removidos para que esta funcione novamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAY, Alberts;LEWIS, Hopkin Johnson; WALTER, Raff Robberts. *Fundamento da Biologia Celular/Comunicação Celular.* 3. ed. Porto Alegre: Artemed, 2010.

BRUCE, Alberts. *Biologia Molecular da Célula.* 4. ed. Porto Alegre: Artemed, 2004.

DE ROBERTIS, Eduardo M. F. & HIB, José; *Bases da Biologia Celular e Molecular/A comunicação Intercelular e a Transmissão Intracelular de sinais.* 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2006.

JUNQUEIRA, Luiz C. & CARNEIRO, José. *Biologia Celular e Molecular/ Comunicações Celulares por Meio de sinais Químicos.* 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2011.

MARTINAC, B. & Kloda, A. Evolutionary origins of mechanosensitive ion channels. In: *Prog. Biophys.* Mol. Biol. 82(1-3). 2003. p.11-24.

Nacife VP1, Soeiro MD, Araújo-Jorge TC, Castro-Faria Neto HC, Meirelles MD.*Ultrastructural, Immunocytochemical and Flow Cytometry Study of Mouse Peritoneal Cells Stimulated with Carrageenan.* *Cell Structure and Function.* , v.25, p.337 - 350, 2000.

Nacife VP1, Soeiro Mde N, Gomes RN, D'Avila H, Castro-Faria Neto HC, Meirelles Mde N. *Morphological and biochemical characterization of macrophages activated by carrageenan and lipopolysaccharide in vivo.**Cell Struct Funct.* 2004 Apr;29(2):27-34.

IMAGENS DO CAPÍTULO

4

Núcleo e Cromossomos

VIVIANE MOREIRA DE LIMA

4 Núcleo e Cromossomos

? CURIOSIDADE

Células polinucleadas

A maioria das espécies de protozoários da classe *Acantharea* e alguns fungos em *Micorrizas* possui células polinucleadas. Em humanos, células do músculo esquelético e osteoclastos são multinucleadas, enquanto outras como as células hepáticas e do músculo cardíaco podem apresentar de um a dois núcleos.

O núcleo é um compartimento intracelular que abriga os cromossomos, juntamente com a maquinaria necessária para a replicação do DNA e a transcrição e processamento dos RNAs. A presença desta organela constitui a principal diferença entre eucariotos e procariotos.

PROCARIOTOS

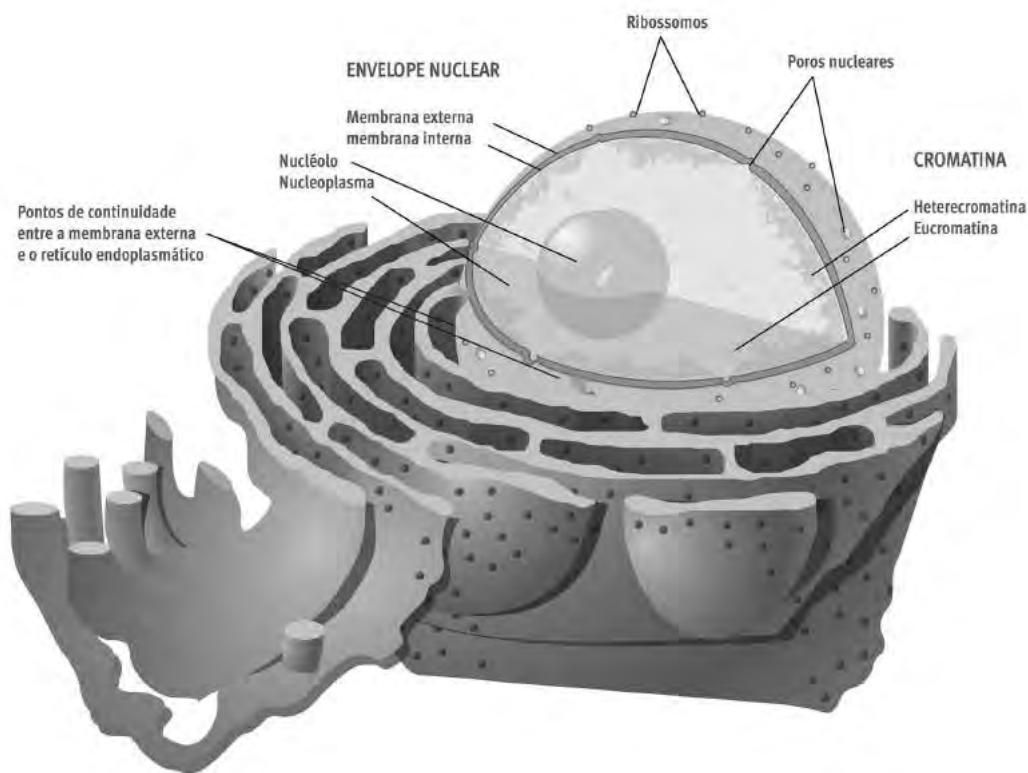
O DNA se encontra no citoplasma sem a delimitação de uma membrana. Este fato exerce uma profunda influência sobre a fisiologia destas células. Os processos de transcrição e tradução ocorrem de forma concomitante, com o RNA mensageiro nascente se associando aos ribossomos, mesmo antes de estar completamente transcrito a partir do molde de DNA.

EUCARIOTOS

Os mesmos processos vistos nos procariotos são separados pela presença do envoltório nuclear, e os RNAs mensageiros são traduzidos apenas após serem completamente transcritos, processados e direcionados ao citoplasma.

O núcleo geralmente é esférico e localizado no centro da célula, entretanto, em algumas células, ele pode apresentar a forma de fuso a ovalado, encurvado, lobado ou até a forma de disco. Apesar de normalmente as células eucariotas apresentarem um núcleo único, alguns tipos de células não possuem núcleos, enquanto outras possuem vários núcleos (***células polinucleadas***).

ATENÇÃO

As células eucariotas que não possuem núcleo (anucleadas) são incapazes de se dividirem para a produção de descendência celular. A ausência do núcleo, nestas células, pode ser derivada de processos normais de maturação celular, ou pode ser resultado de divisões celulares malsucedidas, na qual uma das células-filhas não possui núcleo e a outra fica binucleada.
O tipo de célula anucleada mais conhecida é a hemácia de mamíferos (ou eritrócito). As hemácias passam por um processo de maturação na medula óssea (eritropoiese) durante o qual perdem o núcleo, as demais organelas e os ribossomos.

O tamanho, a forma e o aspecto do núcleo geralmente são constantes para um determinado tipo de célula, fato importante para o diagnóstico clínico de certas células cancerosas.

Organização geral

As células eucariotas mantêm seus DNAs em um compartimento interno separado, o núcleo, o qual mantém contato com o citoplasma através de poros presentes no seu envoltório, também denominado envelope nuclear.

O surgimento da microscopia eletrônica permitiu a visualização do núcleo e de seu envoltório em maiores detalhes e a consequente descoberta de que o mesmo é composto por duas membranas concêntricas (membrana externa e membrana interna) uniformemente distanciadas uma da outra pelo espaço perinuclear. A membrana externa é contínua ao retículo endoplasmático, enquanto a membrana interna é associada a uma malha de proteínas denominada lâmina nuclear, um tipo de filamento intermediário que dá sustentação ao envelope. O interior do núcleo é chamado de nucleoplasma. Nele, se encontra a cromatina ou cromossomos, a qual também se associa ao envelope nuclear e a uma matriz nuclear interna.

Esquema do envelope nuclear: A membrana nuclear interna é recoberta pela lâmina nuclear que serve como local de ligação para a cromatina e a membrana externa é contínua ao retículo endoplasmático.

Estrutura do envelope

Por ser contínua com o retículo endoplasmático, a membrana externa do envoltório compartilha muitas de suas características. Nela, também observamos a presença

CONCEITO

KDa

Unidade de massa atômica

A unidade de massa atômica ou *dalton* é uma unidade de medida de massa utilizada para expressar a massa de partículas atômicas. Seu símbolo é **u**, **uma** ou **Da**.

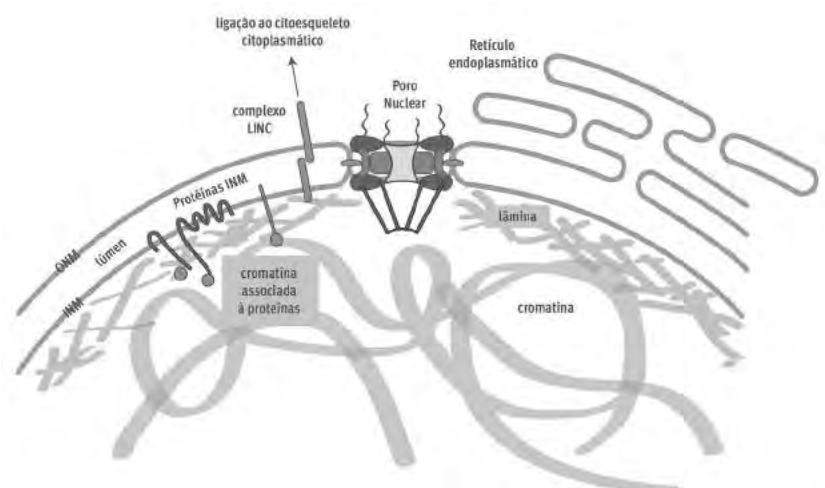
COMENTÁRIO

Laminas

Embora não apresentem laminas, estudos já revelaram a presença de estruturas similares à lâmina nuclear em eucariotos inferiores e plantas.

de ribossomos associados e de canais de translocação de proteínas. Desta forma, as proteínas sintetizadas, nesses ribossomos, são transferidas para o espaço perinuclear, que é contínuo com o lúmen do retículo endoplasmático. É de se esperar, portanto, que a membrana externa apresente algumas funções relacionadas ao retículo endoplasmático. Esta ideia é reforçada pela observação de que o espaço perinuclear acompanha as modificações sofridas pela luz do retículo endoplasmático durante determinadas situações.

EXEMPLO

Quando, por algum motivo, o retículo endoplasmático encontra-se dilatado, como ocorre durante a intoxicação por drogas, o espaço perinuclear também se apresenta dilatado e irregular. Em alguns tipos celulares, como os eritrócitos de aves, o RE é reduzido e sua função é exercida pela membrana nuclear externa.

A membrana interna apresenta uma série de proteínas integrais cuja função consiste em mediar a sua associação com a lâmina nuclear e com a cromatina, além da presença de diversas enzimas, tais como aquelas relacionadas ao metabolismo nuclear do fosfatidilinositol e à biossíntese do colesterol.

A lâmina nuclear corresponde a uma rede fibrosa de espessura variável, justaposta à membrana interna e que, além de auxiliar na manutenção da forma, fornece estabilidade mecânica ao núcleo. Esta rede fibrosa é composta por um grupo de proteínas relacionadas, chamadas de ***laminas***, que são encontradas apenas no reino animal. Estas proteínas pertencem ao grupo das proteínas dos filamentos intermediários do citoesqueleto (capítulo 5). A maioria das células de mamíferos contém quatro laminas diferentes, designadas A, B1, B2 e C. Todas são proteínas fibrosas variando de 60 a 80 ***KDa***, que associam-se umas às outras para formarem um filamento. Além de se ligarem às proteínas integrais específicas da membrana nuclear interna e aos complexos de poro nuclear, a associação das lâminas com a membrana nuclear é facilitada pela adição pós-traducional de grupos lipídicos ligados covalentemente, em particular, pela prenilação de resíduos de cisteína da extremidade c-terminal.

A lâmina nuclear também está indiretamente conectada aos filamentos citoplasmáticos do citoesqueleto através de proteínas presentes na membrana nuclear interna e externa, que interagem entre si formando um complexo denominado de LINC (ligador do nucleoesqueleto com o citoesqueleto). Além de permitir que as forças geradas no citoplasma sejam transmitidas para a lâmina nuclear, o complexo LINC é determinante na manutenção da forma e no posicionamento do núcleo dentro da célula.

Ligação do envelope ao citoesqueleto: Além de estar associada à cromatina através de proteínas integrais presentes na membrana interna (INM), o envelope nuclear está conectado ao citoesqueleto através da interação do complexo LINC, formado pela associação de proteínas integrais específicas presentes na INM e na membra externa ONM.

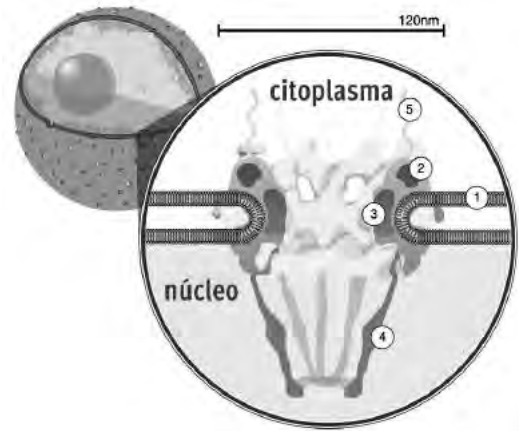
Uma matriz de laminas nucleares, com organização mais frouxa, projeta-se para o interior do núcleo. Essas laminas servem como sítios de adesão da cromatina, em especial da cromatina condensada, além de reguladores da transcrição e complexos de remodelamento da cromatina. É de se esperar, portanto, que a organização normal das laminas seja essencial para os processos de regulação da transcrição assim como para a replicação do DNA .

A superfície do envoltório nuclear é marcada pela presença de poros nucleares que, devido à complexidade estrutural e funcional são denominados de complexos de poro. Na região de inserção dos complexos de poro, as membranas, externa e interna, estão unidas, apesar disso as duas membranas mantêm composições proteicas distintas. Assim como as demais membranas celulares, cada membrana nuclear é formada por uma bicamada de fosfolipídios, sendo permeáveis somente para pequenas moléculas hidrofóbicas, as demais moléculas são incapazes de se difundirem através dessas bicamadas. Os complexos de poro são os únicos canais existentes, no envelope nuclear, e é através deles que íons, pequenas moléculas polares e macromoléculas entram e saem do núcleo.

! ATENÇÃO

Os complexos de poro também estão envolvidos em outras funções celulares, tais como: regulação da expressão gênica, organização da cromatina, reparo do DNA e regulação do ciclo celular.

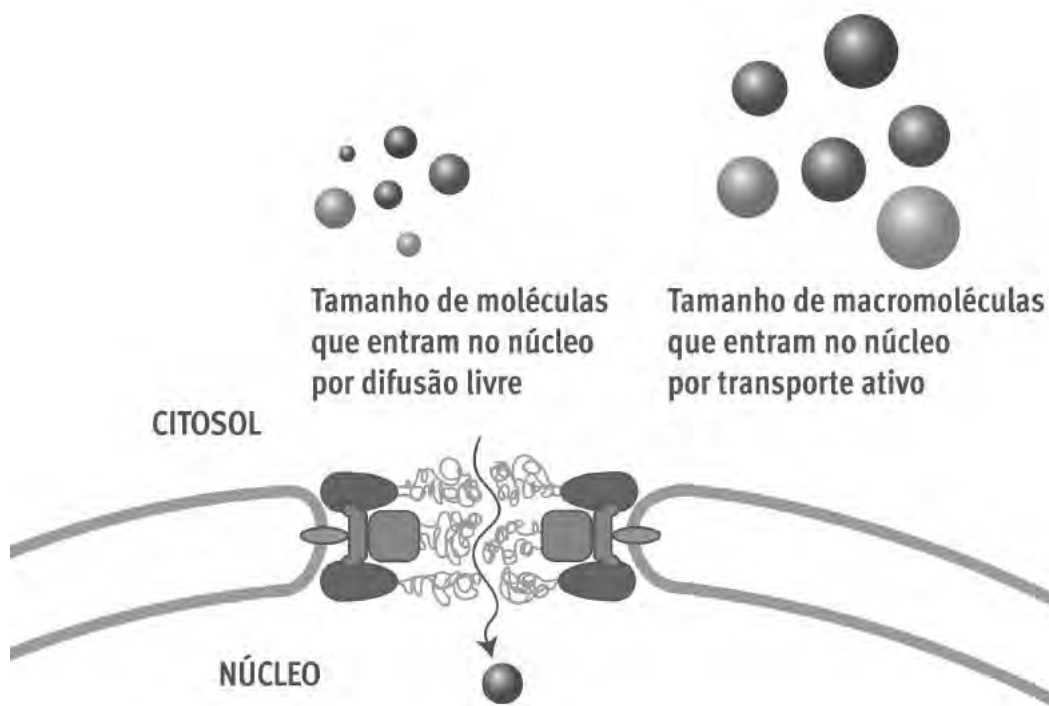
? CURIOSIDADE

Mutações nos genes que codificam proteínas da lâmina nuclear, ou envolvidas na formação da mesma, são a causa de uma série de patologias, tais como a Distrofia Muscular de Emery-Dreyfuss, cardiomiopatias, lipodistrofia parcial e progeria.

Complexos de poro

Os complexos de poro nuclear são estruturas grandes e elaboradas que atravessam o envoltório nuclear de todos os eucariotos. Em células animais, cada complexo de poro nuclear tem uma massa molecular estimada em torno de 125 milhões de dáltons, aproximadamente 30X o tamanho de um ribossomo, e é composto por cerca de 30 proteínas diferentes, conhecidas como nucleoporinas, que estão presentes em múltiplas cópias e organizadas em um arranjo que apresenta simetria octogonal.

Estrutura dos complexos de poro:

1. Envelope Nuclear
2. subunidade do anel
3. subunidade anular
4. cesta nuclear
5. Fibrila citosólica

O número e a densidade dos complexos de poro são bastante variáveis e provavelmente relacionados à necessidade da célula em realizar transportes entre o núcleo e o citoplasma. Enquanto oócitos, por exemplo, são extremamente ricos em complexos de poro, os espermatozoides são desprovidos dele. Entretanto, o envelope nuclear de uma célula de mamífero típica apresenta, em média, de 3 a 4 mil complexos de poro nuclear, os quais exercem um papel fundamental na fisiologia de todas as células eucariotas, pois, enquanto os RNAs sintetizados no núcleo devem ser direcionados para o citoplasma para que atuem na síntese proteica, muitas proteínas que exercem suas funções dentro do núcleo, tais como as histonas e as laminas, devem ser importadas do citoplasma, onde são sintetizadas, para o núcleo. Além disso, muitas proteínas circulam continuamente entre o núcleo e o citoplasma, de forma que há uma contínua movimentação de proteínas e RNAs pelos complexos de poro nuclear e, embora não se saiba ainda como ocorre o controle do fluxo bidirecional, cada um deles pode transportar até 500 macromoléculas por segundo em ambas as direções.

Cada complexo de poro contém além de um canal central, oito canais periféricos de 5 a 10 nm de diâmetro, preenchidos por água, que facilitam a passagem de íons e pequenas moléculas. O canal central, também preenchido por água, permite a passagem de complexos maiores. Sendo assim, dependendo do tamanho das moléculas, estas podem deslocar-se através dos poros por um de dois caminhos diferentes.

Moléculas pequenas e algumas proteínas com massa molecular menor do que aproximadamente 40KDa (ou 5nm) passam livremente através do envelope nuclear em ambas as direções: citoplasma-núcleo e núcleo-citoplasma. Essas moléculas difundem-se passivamente através dos canais aquosos. A velocidade da difusão, entretanto, varia conforme o tamanho, quanto maior a molécula menor a velocidade de difusão. Isto porque muitas das proteínas que revestem o canal central contêm regiões extensivas, as quais parecem formar uma trança desordenada, semelhante a um emaranhado, que preenche o centro do canal, o que dificulta a passagem de moléculas grandes.

Modelo para barreira de difusão controlada do complexo de poro: Visão de um complexo de poro mostrando as regiões não estruturadas de proteínas que formam uma malha emaranhada no poro central, bloqueando a difusão passiva de grandes moléculas. A entrada das macromoléculas está vinculada à presença de um sinal de direcionamento adequado e ao transporte via importinas e exportinas. Neste caso, mesmo partículas de até 39nm de diâmetro podem passar através dos complexos de poro.

Desta forma, a maioria das proteínas e RNAs são incapazes de passar através desses canais abertos. Essas macromoléculas e complexos macromoleculares (como os ribossomos) devem apresentar um sinal de distribuição apropriado, o qual é reconhecido e utilizado para a transferência dessas macromoléculas através dos complexos de poro em uma direção específica.

Importação nuclear

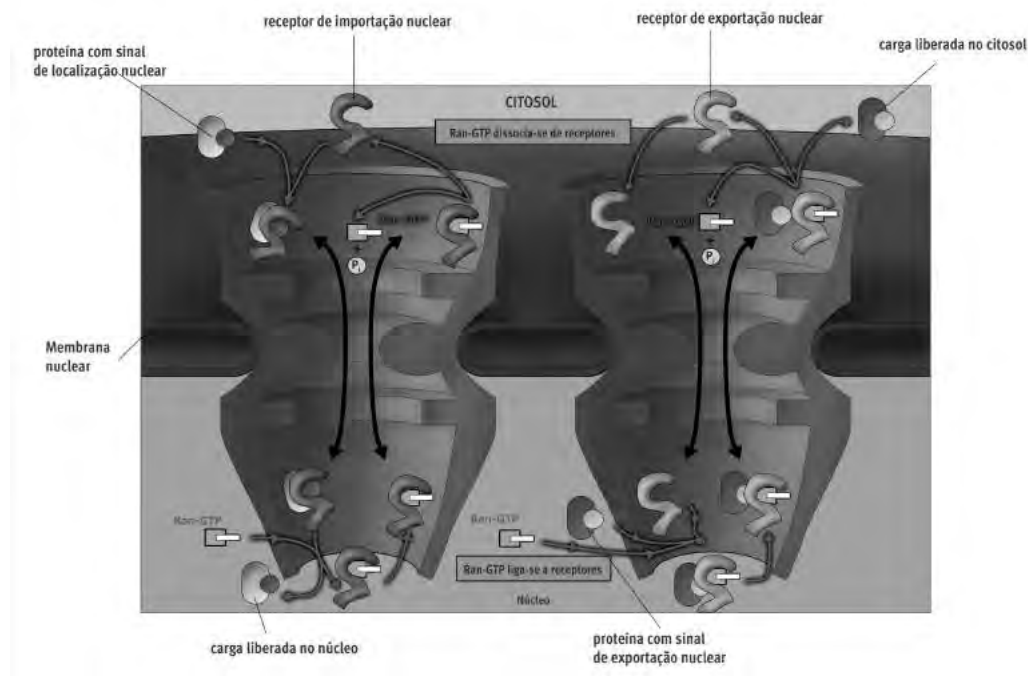
Muitas proteínas, as quais são sintetizadas por ribossomos presentes no citoplasma, exercem suas funções no núcleo. Tais proteínas são responsáveis por todos os aspectos da estrutura e função nuclear e do genoma. Elas incluem as histonas, DNA e RNA polimerases, fatores de transcrição, proteínas ribossomais, fatores de processamento do RNA e muitos outros. Estas proteínas são direcionadas ao núcleo após a sua síntese, por apresentarem sinais de endereçamento chamados de sinais de localização nuclear (NSL).

ATENÇÃO

Sinais de localização nuclear – NSL – *Nuclear localization sequence*

Este sinal, uma sequência de aminoácidos específica, consiste tipicamente em uma ou duas sequências curtas contendo várias lisinas ou argininas carregadas positivamente, embora a sequência exata varie

para diferentes proteínas nucleares. Estes sinais podem estar localizados em praticamente qualquer lugar, na sequência de aminoácidos que forma a proteína, sugerindo que a localização exata da sequência do sinal não é importante para o seu reconhecimento. Em alguns casos, ela pode não residir necessariamente na sequência primária da proteína, sendo formada apenas devido a um arranjo específico encontrado em certa conformação da proteína.

Após a síntese e completo enovelamento da proteína nuclear no citoplasma, os sinais de direcionamento nuclear são reconhecidos por proteínas citosólicas denominadas de receptores de importação nuclear ou importinas. Estes receptores de importação são codificados por uma família de genes. Da mesma forma que existem variações na sequência de direcionamento nuclear, entre diferentes tipos de proteínas nucleares, existem variações nos tipos de receptores de importação que reconhecem estas sequências. Algumas vezes, os receptores não se ligam diretamente nas proteínas a serem transportadas. Em vez disso, proteínas adaptadoras adicionais são utilizadas como ponte entre os receptores de importação e os sinais de localização nuclear presentes nas proteínas destinadas ao núcleo. Isso permite que a célula reconheça um amplo repertório de variações nos sinais de localização nuclear.

Os receptores ajudam a direcionar a nova proteína ao núcleo através da interação com proteínas do complexo de poro nuclear, algumas das quais formam fibrilas que se estendem ao citosol. Durante o transporte, estes receptores se prendem sobre sequências repetidas de aminoácidos (ricas em fenilalanina e glicina) dentro do emaranhado de proteínas que se estendem para o interior do poro nuclear. Acredita-se que estas sequências repetitivas revistam o interior do poro nuclear, de modo que os receptores de importação se desloquem pelo interior do poro movendo-se de uma sequência repetitiva para outra, por sucessivos eventos de ligação, dissociação e religação, transportando assim, a proteína específica para dentro do núcleo. Uma vez no núcleo, o complexo receptor-proteína nuclear, é desfeito pela associação com uma proteína denominada Ran-GTP. O receptor nuclear agora associado com a proteína Ran-GTP retorna ao citoplasma. No citoplasma, o GTP é hidrolisado à GDP e o receptor nuclear se dissocia da proteína Ran (agora Ran-GDP) ficando livre para um novo ciclo de transporte para núcleo.

Exportação nuclear

Da mesma forma que proteínas que exercem sua função dentro do núcleo devem ser importadas, muitos componentes tais como RNAs mensageiros e transportadores e subunidades ribossomais devem ser exportados para o citoplasma, como visto na imagem a seguir. Este processo também ocorre através dos complexos de poro nuclear e também depende de sinais de direcionamento adequados, sinais de exportação nuclear, presentes nas macromoléculas a serem transportadas, que são reconhecidos por receptores de exportação nuclear ou exportinas. No caso do transporte de RNAs, a complexação com proteínas é fundamental para que o processo ocorra. Apenas os complexos de RNA com proteínas, algumas das quais carregam o sinal de exportação, podem ser transportados para fora do núcleo.

O sistema de exportação ocorre de maneira bem similar ao de importação só que no sentido inverso. Neste caso, entretanto, a Ran-GTP aumenta a afinidade entre o receptor de

exportação e suas proteínas de carga dentro do núcleo. Após o transporte para o lado citosólico, a hidrólise do GTP leva à dissociação da proteína-alvo, que é liberada no citoplasma, e o receptor de exportação retorna ao núcleo.

Transporte de partículas ou macromoléculas maiores que 40KDa: o movimento de receptores de transporte nuclear carregados através do complexo de poro pode ocorrer por difusão guiada ao longo das repetições de fenilalanina e glicina presentes nas proteínas do complexo de poro. A localização diferencial de Ran-GTP, no núcleo, e Ran-GDP no citosol propicia a direcionalidade tanto para importação quanto para exportação. A hidrólise de GTP é mediada por Ran-GAP no lado citossólico do complexo de poro. Ran-GDP é importando para o núcleo por seu próprio receptor de importação, que é específico para a conformação de Ran ligada a GDP.

Direcionalidade do transporte nuclear

Como qualquer processo que requer ordem, tanto a importação quanto a exportação de componentes do núcleo requer energia. Neste caso, a energia é fornecida pela hidrólise do GTP associado à proteína Ran, que direciona o transporte nuclear no sentido apropriado.

ATENÇÃO

A proteína Ran funciona como um interruptor molecular, que pode existir em dois estados conformacionais dependendo de quem está ligado a ela, o GTP ou o GDP. A conversão entre os dois estados depende de duas proteínas reguladoras Ran específicas: a proteína citosólica GAP (GTPase-activating protein) que aciona a hidrólise de GTP e converte a Ran-GTP em Ran-GDP; e a proteína nuclear GEF (guanine exchange fator) que promove a troca de GDP para GTP e assim converte Ran-GDP em Ran-GTP.

Devido ao fato da proteína GAP estar presente no citoplasma e a proteína GEF está localizada no núcleo, o citoplasma contém principalmente a Ran-GDP enquanto o núcleo apresenta principalmente a Ran-GTP. Essa diferença na concentração das duas formas da proteína Ran direciona o transporte no sentido apropriado.

Regulação do transporte nuclear

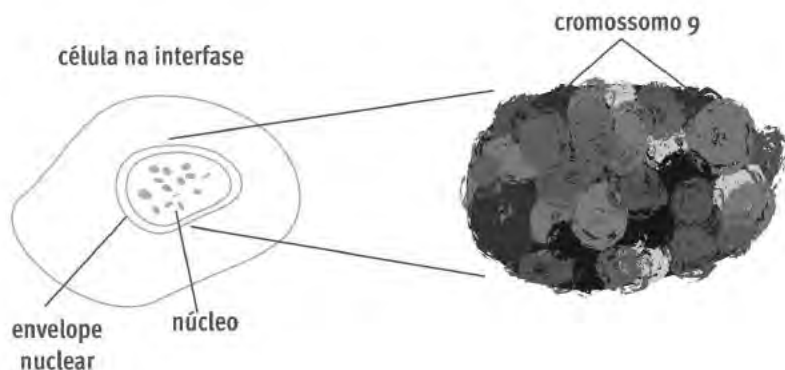
Algumas proteínas, como as que auxiliam no transporte de RNAs mensageiros recém-sintetizados para o citoplasma, trafegam continuamente entre o núcleo e o citoplasma. Sendo assim, essas proteínas devem apresentar tanto sinais de importação quanto de exportação nuclear e o transporte pode ocorrer continuamente para dentro e para fora do núcleo. Em outros casos, entretanto, como o de alguns fatores de transcrição, este transporte é fortemente regulado, de forma que as proteínas são retidas fora do núcleo até que sejam necessárias.

Esse controle pode ocorrer por meio da regulação dos sinais de importação/exportação nuclear, os quais podem ser "ligados" ou "desligados" através da fosforilação/desfosforilação de aminoácidos adjacentes.

Em outros casos, o controle é realizado por meio de proteínas inibitórias que retêm as proteínas nucleares, no citoplasma, por ancorá-las através de interações com o citoesqueleto ou organelas específicas, ou por mascarar o sinal de importação de modo que estes são incapazes de se ligar com os receptores. Nestas situações, as proteínas nucleares permanecem no citoplasma até que a célula receba um sinal ou estímulo específico e a proteína inibitória seja liberada.

EXEMPLO

A proteína reguladora que controla a expressão de proteínas envolvidas, no metabolismo do colesterol, é armazenada em uma forma inativa como uma proteína transmembranar do retículo endoplasmático. Na ausência de colesterol, a célula ativa proteases específicas que clivam a proteína liberando seu domínio citosólico. Este domínio apresenta o sinal de importação ou localização nuclear e, desta forma, agora que está livre, pode ser levado ao núcleo pelos receptores de importação, e ativar a transcrição dos genes necessários para a importação e síntese do colesterol.

Organização interna do núcleo

O núcleo não é apenas um compartimento onde a cromatina está armazenada, ele apresenta uma estrutura interna que organiza o material genético e localiza algumas funções nucleares em sítios distintos ou domínios. A maioria destes domínios, senão todos, parece estar baseada na estrutura altamente organizada e no posicionamento da cromatina dentro do núcleo.

Dentro do núcleo, cada cromossomo, mesmo durante a intérfase, ocupa uma região distinta, de maneira que os vários cromossomos não se enroscam uns nos outros. Além disso, regiões específicas de cada cromossomo se associam ao envelope ou à lâmina nuclear, criando, desta forma, domínios funcionais distintos, que apresentam um papel impor-

tante na regulação da expressão gênica. As regiões de heterocromatina, que não apresentam genes ativos, estão associadas à lâmina nuclear, enquanto as regiões de eucromatina, que apresentam os genes que estão ativos, ficam voltadas para o interior do núcleo.

ATENÇÃO

A associação com a lâmina nuclear varia para cada cromossomo, ao longo dos diferentes tecidos que compõem o organismo, uma vez que diferentes tipos de células apresentam conjuntos diferentes de genes ativos e inativos.

Representação gráfica da visualização de todos os cromossomos humanos em um único núcleo durante a *intérfase*: Uma mistura de fluorocromos diferentes foi utilizada para marcar o DNA de cada cromossomo, utilizando a microscopia de fluorescência. A técnica permitiu que cada cromossomo fosse dinstinguido em reconstruções tridimensionais, de forma a visualizar a presença de territórios cromossômicos.

A organização interna do núcleo também é demonstrada pela localização de outros processos nucleares em regiões específicas do núcleo ou corpos nucleares. Estas regiões se caracterizam por serem enriquecidas em proteínas e/ou RNAs específicos e podem estar envolvidas em uma série de atividades nucleares, incluindo regulação gênica, processamento de diferentes tipos de RNAs, proteólise e replicação do DNA. Alguns destes corpos já foram visualizados e vêm sendo estudados, tais como os ***corpos de Cajal*** e os ***grânulos de intercromatina*** (também chamadas de spekles ou manchas). Além de serem estruturas extremamente dinâmicas, nenhum desses corpos é envolvido por membrana.

EXEMPLO

O principal exemplo dessa organização do núcleo interfásico é o nucléolo, a estrutura mais proeminente do núcleo e caracterizada como o local onde ocorre a transcrição, o processamento dos RNAs ribossomais (rRNAs) e a montagem das subunidades dos ribossomos.

CONCEITO

Intérfase

Período de intervalo entre uma mitose e outra, onde a célula aumenta o seu volume, tamanho e número de organelas reunindo condições para se dividir e originar células-filhas.

CONCEITO

Corpos de Cajal

Os corpos de Cajal são sítios de montagem de ribonucleoproteínas (RNPs), as quais fazem parte da maquinaria envolvida no processamento dos RNAs.

CONCEITO

Grânulos de Intercromatina

Os grânulos de intercromatina são regiões do núcleo nas quais se acredita que as RNPs maduras e prontas para serem utilizadas ficam estocadas como acúmulos de reserva.

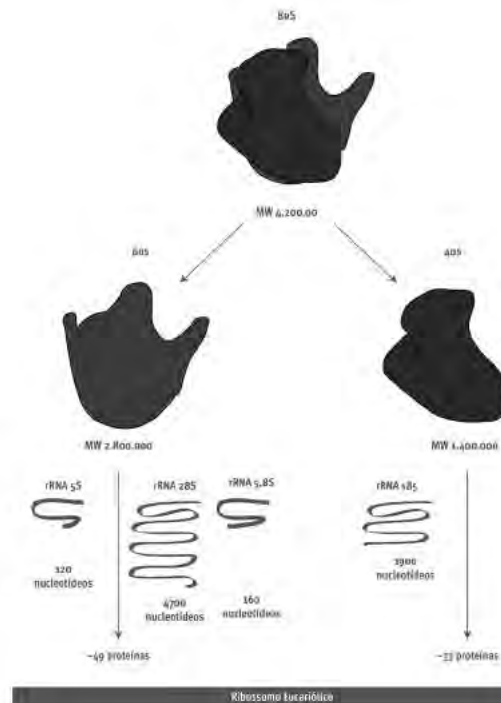
? CURIOSIDADE

Ribossomos

Em células de mamíferos que se encontram em crescimento, por exemplo, 5 a 10 milhões de ribossomos devem ser sintetizados cada vez que a célula se divide. O nucléolo é o domínio nuclear responsável pela síntese dos ribossomos. O tamanho e a forma do nucléolo dependem do estado de funcionamento da célula. Quanto maior for a necessidade de síntese de proteínas, maior será o nucléolo.

Nucléolo

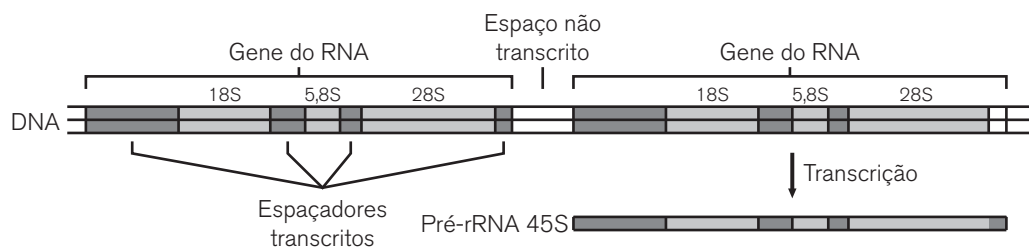
O funcionamento da célula depende da sua capacidade de sintetizar proteínas, visto que elas estão envolvidas em uma série de funções metabólicas, estruturais e de sinalização. Sendo assim, as células necessitam de um grande número de ***ribossomos*** para que possam suprir esta necessidade de síntese proteica.

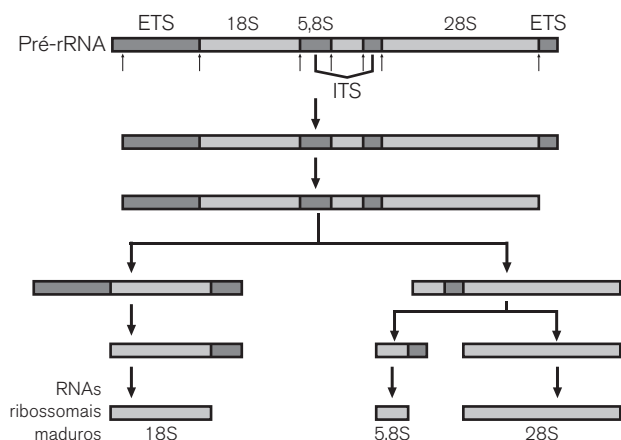
! ATENÇÃO

O número de nucléolos por núcleo pode variar. A maioria das células apresenta um nucléolo, porém podem ser observadas células com dois ou mais.

Conforme dito anteriormente, o nucléolo não é envolvido por membrana, em vez disso, ele é formado por um agregado de macromoléculas que inclui as regiões cromossômicas que contêm os genes para os RNAs ribossomais, os RNAs ribossomais que estão sendo transcritos e processados juntamente com as enzimas envolvidas neste processo, as proteínas ribossomais e as subunidades ribossomais que estão sendo montadas.

Nucléolo e Síntese de ribossomos

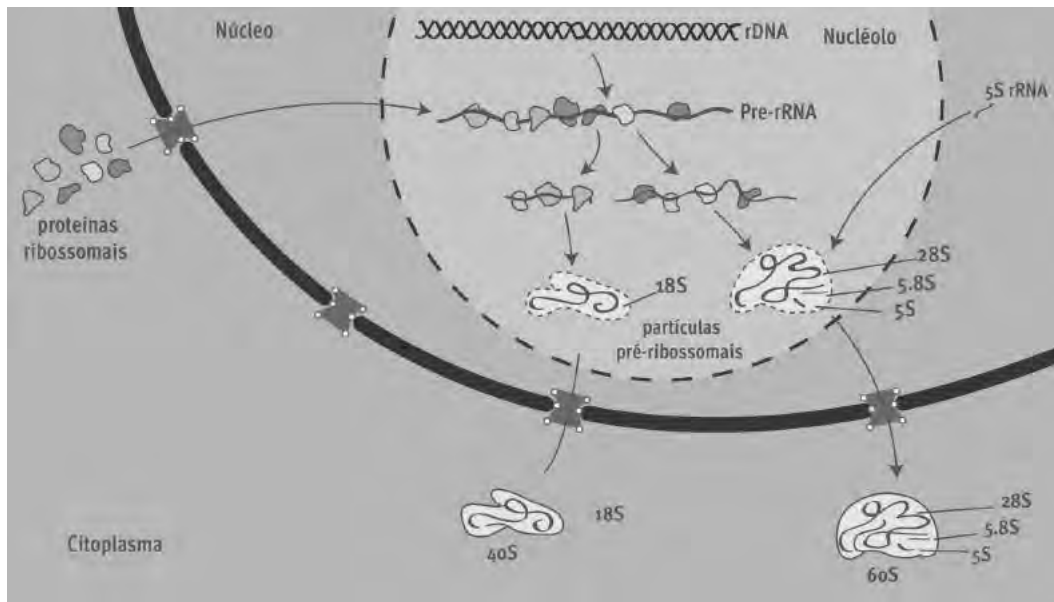
Os ribossomos dos eucariotos superiores contêm quatro tipos de RNAs, 5S , 5.8S, 18S e 28S, que são chamados de RNAs ribossomais (rRNA). Os RNAs 5S, 28S e 5.8S associados a aproximadamente quarenta e nove proteínas, formam a subunidade maior (60S) enquanto o RNA 18S associado com aproximadamente trinta e três proteínas forma a subunidade menor (40S). Os RNAs 5.8S, 18S e 28S são transcritos no nucléolo, enquanto o RNA 5S é transcrito fora do nucléolo e depois encaminhado para ele.

Composição dos ribossomos eucarióticos: A subunidade maior do ribossomo (60S) é formada pelos rRNAs 5S, 28S e 5.8S mais um conjunto de aproximadamente quarenta e nove proteínas, enquanto a subunidade menor (40S) é formada pelo rRNA 18S mais um conjunto de aproximadamente trinta e três proteínas. As duas subunidades se associam no citoplasma apenas no momento da tradução, quando formando um ribossomo completo (80S).

Para atender a necessidade de produção de um grande número de ribossomos, todas as células contêm múltiplas cópias dos genes que codificam os RNAs ribossomais.

EXEMPLO

O genoma humano contém aproximadamente duzentas cópias do gene que codifica para os RNAs ribossomais 5.8S, 18S e 28S e, em torno de duas mil cópias, do gene que codifica para o rRNA 5S. As cópias do gene que codifica para os RNAs 5.8S, 18S e 28S, estão organizadas em sequência, *in tandem,* separadas uma da outra por um DNA espaçador não transcrito, estando as duzentas cópias distribuídas em cinco cromossomos diferentes, os cromossomos 13, 14, 15, 21 e 22. As cópias do gene que codifica para o RNA 5S, por sua vez, estão presentes em uma única série no cromossomo 1.

Composição dos genes do rRNA: Cada gene do rRNA é uma unidade única de transcrição contendo os RNAs ribossomais 18S, 5.8S e 28S e as sequências espaçadoras transcritas. Os genes do rRNA estão organizados em série, separados por DNA espaçador que não é trascrito.

Durante a interfase, os pares de cromossomos 13, 14, 15, 21 e 22, estendem alças de DNA (contendo os genes ribossomais) para o nucléolo onde ocorrerá a transcrição dos genes ribossomais. Tais regiões destes cromossomos são chamadas de organizadoras de nucléolo.

Os RNAs ribossomais, 5.8S, 18S e 28S, são transcritos como uma unidade única, produzindo um RNA precursor 45S, denominado pré-rRNA 45S, que contém os RNAs ribossomais 18S, 5.8S e 28S, bem como regiões espaçadoras transcritas. Este precursor sofre modificações químicas em alguns de seus nucleotídeos, como metilações e isomerizações, sendo clivado para a formação dos RNAs 18S, 5.8S e 28S.

Processamento da molécula precursora dos rRNAs ribossomais: O transcrito do pré-RNA ribossomal (45S) contém espaçadores transcritos externos (ETS) em ambas as extremidades e espaçadores transcritos internos (ITS) entre as sequências dos RNAs ribossomais 18S, 5.8S e 28S. O pré-rRNA 45S é processado através de uma série de clivagens para produzir os RNAs ribossomais maduros.

A formação dos ribossomos envolve a união destes RNAs ribossomais, com proteínas ribossomais e com o rRNA 5S. As proteínas ribossomais são codificadas por genes que são transcritos fora do nucléolo. Tais proteínas são transportadas do citoplasma (onde são traduzidas) para o nucléolo, onde são unidas com os RNAs ribossomais para a formação das partículas pré-ribossomais. Os rRNAs 5S, embora sejam transcritos fora do núcleolo, também se unem às partículas pré-ribossomais dentro do nucléolo.

Mais da metade das proteínas ribossomais se associa com o pré-rRNA 45S antes da sua clivagem se iniciar e as proteínas restantes, assim como o rRNA 5S, são incorporadas às partículas pré-ribossomais conforme a clivagem prossegue. Em seguida, as partículas pré -ribossomais são exportadas para o citoplasma, onde ocorrem os estágios finais da maturação ribossomal, formando-se assim, as subunidades maior (60S) e menor (40S) ativas de ribossomos eucariotos.

Montagem das subunidades ribossomais: As proteínas ribossomais são importadas para o nucléolo a partir do citoplasma e começam a unir-se ao pré-rRNA antes do início da sua clivagem. Enquanto o pré -rRNA é processado, proteínas ribossomais adicionais e o rRNA 5S (sintetizado fora do nucléolo) unem-se para formar partículas pré-ribossomais. Os passos finais da maturação ocorrem após a exportação das partículas pré-ribossomais para o citoplasma, produzindo as subunidades ribossomais 40S e 60S.

Morfologicamente, podem-se distinguir três regiões nos nucléolos:

- CENTRO FIBRILAR
- COMPONENTES FIBRILARES DENSOS
- COMPONENTES GRANULARES

Acredita-se que estas regiões representem os sítios de estágios progressivos da transcrição, processamento dos RNAs e montagem dos ribossomos, com a transcrição ocorrendo entre o centro fibrilar e o componente fibrilar denso e o processamento dos RNAs e a montagem dos ribossomos ocorrendo nos componentes granulares adjacentes.

Outras funções nucleolares

Além do importante papel na formação dos ribossomos, o ***nucléolo*** também é uma região onde outros RNAs são produzidos e outros complexos RNA-proteínas são montados.

Os genes que codificam os RNAs transportadores, que carregam os aminoácidos para a síntese de proteínas, também estão agrupados no nucléolo, de forma que também é responsável pela transcrição e o processamento destes RNAs. Além disso, outros importantes complexos RNA-proteína, tais com a partícula de reconhecimento de sinal (capítulo 5) e a telomerase também são montados no nucléolo.

CURIOSIDADE

Nucléolo

O nucléolo também participa de outras funções celulares tais como a regulação do ciclo celular, resposta a estresse e envelhecimento.

Matriz nuclear e Nucleoplasma

Conforme visto nas seções anteriores, o núcleo apresenta uma série de domínios e corpos nucleares que apresentam funções específicas, tais como o nucléolo. Todos esses subcompartimentos nucleares parecem ser formados apenas quando é necessário, criando-se, em determinado local, uma alta concentração de diversas enzimas e moléculas de RNA que estão envolvidas em um processo específico. Quando o DNA é danificado por irradiação, por exemplo, formam-se agregados em pontos discretos dentro do núcleo, nos quais as enzimas necessárias para o reparo estão presentes, criando-se desta forma fábricas de reparo.

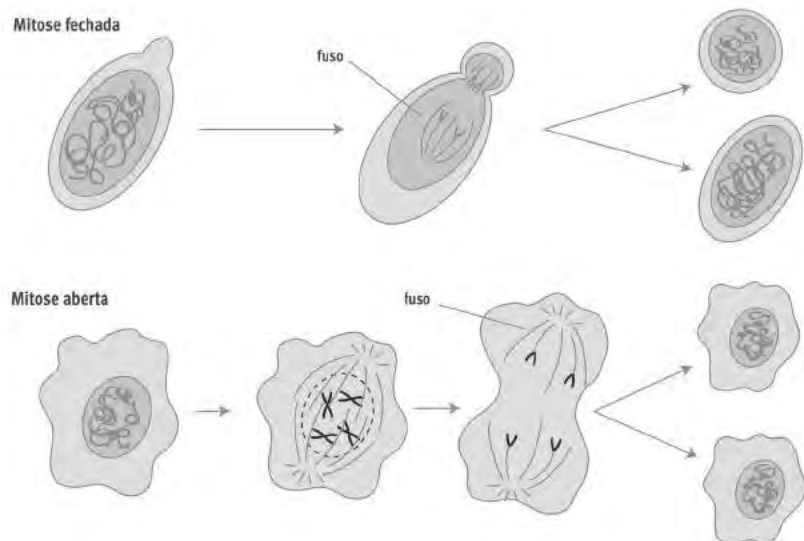
Essas regiões com funções específicas são formadas ou montadas pelo mesmo tipo de conexões, nas quais longos segmentos flexíveis de cadeias polipeptídicas apresentam sítios de ligação que concentram as diversas moléculas de proteínas ou RNA necessárias à catálise de um determinado processo.

Esses segmentos flexíveis, dos quais também fazem parte proteínas que se associam à cromatina, formam um arcabouço proteico denominado matriz nuclear. Por definição, a matriz nuclear consiste de um material insolúvel que permanece no núcleo após uma série de etapas de extrações bioquímicas. Este material é formado de uma matriz proteica que alicerça o núcleo e sobre a qual se organizam os domínios e corpos nucleares. Essa matriz proteica, juntamente com os subcompartimentos e

a cromatina, encontra-se mergulhada no nucleoplasma, uma massa incolor constituída por água, proteínas, RNAs, nucleotídeos e íons, a qual é delimitada pela membrana interna do envelope nuclear.

? CURIOSIDADE

Eucariotos

Outros eucariotos inferiores empregam a mitose semiaberta, durante a qual o envelope nuclear permanece parcialmente intacto.

O núcleo durante a mitose

Dentre as organelas presentes nos ***eucariotos***, o núcleo apresenta uma característica marcante na maioria das células. Ele se desmonta e se forma novamente a cada vez que a célula se divide.

ATENÇÃO

A desmontagem do envelope nuclear marca o final da fase de prófase da mitose. Entretanto, esta não é uma característica universal e não ocorre em todas as células. Alguns eucariotos unicelulares, tais com as leveduras, apresentam o que se chama de mitose fechada, na qual o envelope nuclear permanece intacto. Neste tipo de mitose, os cromossomos-filhos migram para os polos opostos do núcleo, que então se divide em dois.

Mitose fechada e aberta: Na mitose fechada, o envelope nuclear permanece intacto e os cromossomos migram para os pólos opostos de um fuso formado dentro do núcleo. Na mitose aberta, o envelope nuclear rompe-se e forma-se novamente ao redor de dois conjuntos de cromossomos separados.

A mitose aberta é marcada por uma mudança dramática na arquitetura nuclear. No começo da mitose, os cromossomos se condensam, o nucléolo desaparece e o

Os eucariotos superiores apresentam o que se chama de mitose aberta.

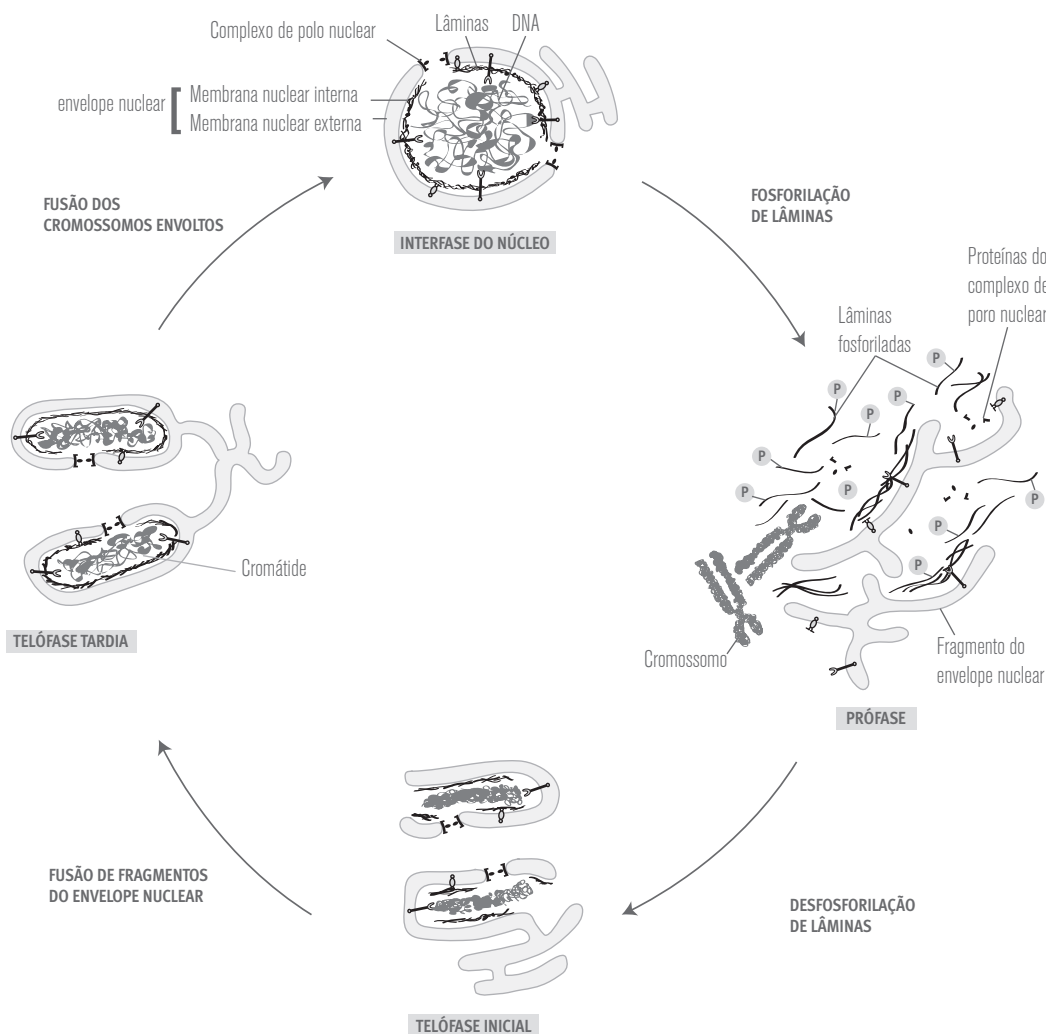
envelope nuclear se desagrega, resultando na liberação da maioria dos componentes do núcleo no citoplasma. Ao final da mitose, o processo é revertido, de forma que os fragmentos do envelope nuclear envolvem os cromossomos individuais, coalescem para formar o envelope nuclear completo, e os cromossomos descondensam-se.

O processo de desmontagem do envelope nuclear é controlado principalmente, pela fosforilação de proteínas nucleares por proteínas quinases específicas que são ativadas no início da mitose. A desmontagem envolve a mudança em todos os componentes do envelope: as membranas nucleares são fragmentadas em vesículas, os complexos de poro nuclear dissociam-se, e a ***lâmina nuclear*** despolimeriza-se.

A desmontagem da lâmina nuclear resulta, pelo menos em parte, da fosforilação das laminas, que leva a dissociação dessas proteínas em dímeros individuais. Paralelamente à dissolução da lâmina nuclear, o envelope nuclear fragmenta-se em vesículas. As laminas tipo B permanecem associadas a essas vesículas, mas as laminas A e C dissociam-se da membrana nuclear interna e são liberadas como dímeros no citosol. Esta diferença de comportamento se deve ao fato das laminas do tipo B estarem inseridas na membrana pela presença de grupamentos lipídicos associados.

Os complexos de poro nuclear também se dissociam em subunidades como resultado da fosforilação de várias de suas proteínas. Durante este processo, algumas proteínas do complexo de poro encontram-se ligadas a receptores de importação nuclear.

Proteínas integrais do envelope nuclear também são fosforiladas durante a mitose, e essa fosforilação pode ser importante na dissociação da membrana nuclear interna ligada aos cromossomos e à lâmina nuclear. As proteínas de membrana do envelope não mais ligadas ao complexo de poro, lâmina nuclear ou cromatina, difundem-se pela membrana do retículo endoplasmático e com a participação da proteína motora dineína, que se move ao longo dos microtúbulos (capítulo 5), ocorre a fragmentação do envelope nuclear.

ATENÇÃO

Juntos, esses eventos quebram a barreira que normalmente separa o núcleo do citosol e as proteínas nucleares que não estão aderidas às membranas ou aos cromossomos misturam-se completamente com o citosol das células em divisão.

Durante a conclusão da mitose (telófase), dois novos núcleos formam-se ao redor de conjuntos separados de cromossomos-filhos, os cromossomos se descondensam e os citoplasmas são separados (citocinese). A reestruturação do envelope e descondensação dos cromossomos ocorrem pela desfosforilação do mesmo conjunto de proteínas que foi inicialmente fosforilado pelas quinases. Esse processo de desfosforilação pode ocorrer por inativação das quinases, ativação de fosfatases, ou ambas.

O primeiro passo na reestruturação do envelope nuclear é a ligação das vesículas formadas durante o rompimento deste envoltório à superfície dos cromossomos. A proteína Ran (envolvida no transporte nuclear) também participa em muitos passos iniciais dessa reestruturação nuclear. A Ran-GEF permanece ligada à cromatina quando o envelope é rompido. Desta forma, proteínas Ran próximas a ela estão sempre em sua conformação ligada a GTP, enquanto as proteínas Ran mais distantes têm uma probabilidade maior de encontrar uma Ran-GAP, as quais se encontram distribuídas por

todo o citosol e, sendo assim, essas proteínas estão principalmente na conformação Ran-GDP. É dessa maneira que a cromatina em células eucarióticas é circundada por uma nuvem de Ran-GTP. As Ran-GTPs recrutam os receptores de importação nuclear ligados às proteínas do complexo de poro, as quais começam a se agregar ligadas à superfície dos cromossomos.Ao mesmo tempo, proteínas da membrana nuclear interna e laminas desfosforiladas começam a se ligar à cromatina.

Sendo assim, as vesículas começam a se associar e a se fundir ao redor de cada cromossomo, o que é seguido pela montagem dos complexos de poro e de nova formação da lâmina nuclear. Em seguida, as vesículas, agora envolvendo cromossomos individuais, fundem-se umas com as outras para formar um envelope nuclear único, completo, mais uma vez contínuo com o retículo endoplasmático. A remontagem inicial do envelope próxima à superfície dos cromossomos individuais exclui as moléculas citoplasmáticas dos núcleos recém-formados. Após a sua reestruturação, os complexos de poro iniciam ativamente a reimportação de proteínas que contêm sinais de localização nuclear.

Quebra e remontagem do envelope nuclear durante a mitose

A fosforilação das laminas parece desencadear a desagragação da lâmina nuclear, levando à quebra do envelope nuclear. A desfosforilação das laminas, por sua vez, parece auxiliar na reestruturação

do envelope. Um ciclo de fosforilação e desfosforilação análogo a este também ocorre em algumas nucleoporinas e proteínas da membrana nuclear interna. O envelope nuclear, inicialmente, remonta-se ao redor de cromátides descondensadas individuais. Com o progresso da descondensação dos cromossomos, essas estruturas fundem-se para formar um núcleo completo único.

Como os sinais de localização das proteínas nucleares não são clivados após a sua importação, as mesmas proteínas que foram liberadas dentro do citoplasma, após a desmontagem do envelope no começo da mitose, podem ser importadas novamente para dentro dos novos núcleos formados após a mitose.

ATENÇÃO

Após a reestruturação nuclear, conforme os cromossomos se descondensam, o nucléolo reaparece e a transcrição gênica é retomada, completando o retorno da mitose para o estado de núcleo em intérfase.

Cromossomos: mitóticos e interfásicos

Durante a **mitose,** na qual ocorre a separação das cópias cromossômicas entre os dois núcleos-filhos, os cromossomos encontram-se altamente condensados, sendo por isso mais facilmente visualizados e denominados de **cromossomos mitóticos.** Na **intérfase,** entretanto, os cromossomos se encontram em uma forma menos compacta, mais descondensada, na qual as moléculas de DNA ainda associadas às proteínas histônicas e não histônicas recebem a denominação de cromatina ou **cromossomos interfásicos.**

ATENÇÃO

Os cromossomos interfásicos, entretanto, não se encontram completamente descompactados. Em todos os cromossomos interfásicos, encontramos regiões denominadas de *heterocromatina*, que permanecem altamente condensadas e, portanto, transcricionalmente inativas. As demais regiões, denominadas de eucromatina, se encontram mais descondensadas, apresentando genes que se encontram, consequentemente, transcricionalmente ativos.

As células apresentam dois tipos de heterocromatina:

HETEROCROMATINA CONSTITUTIVA	HETEROCROMATINA FACULTATIVA

Para cada cromossomo, grande parte da heterecromatina está localizada na periferia do núcleo, devido à presença de proteínas associadas

CONCEITO

Heterocromatina

Heterocromatina constitutiva

A heterocromatina constitutiva representada pelos telômeros e centrômeros, contém sequências de DNA que nunca serão transcritas, independente do tipo de célula e da fase do ciclo celular que esta célula se encontra. São regiões, que não apresentam genes, sendo ricas em sequências repetitivas de DNA.

Heterocromatina facultativa

A heterocromatina facultativa por sua vez, carrega genes cuja transcrição ocorre apenas em determinados tipos de células de um organismo.

que se ligam à ***lâmina nuclear***, enquanto a região de eucromatina fica voltada para o interior do núcleo. Uma vez que diferentes tipos de células expressam diferentes genes, suas regiões de heterocromatina facultativa também são diferentes e desta forma regiões cromossômicas variáveis interagem com a lâmina nuclear em diferentes tipos de células e tecidos.

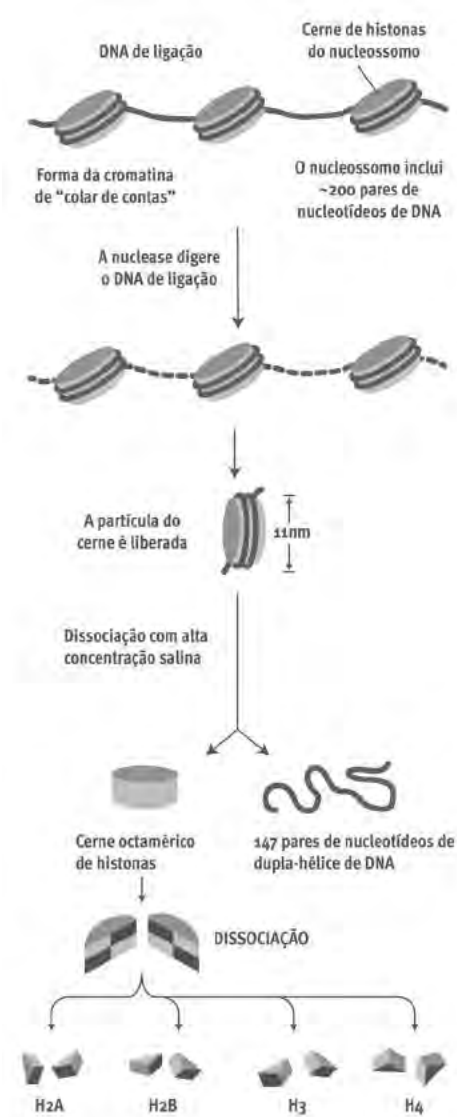
? CURIOSIDADE

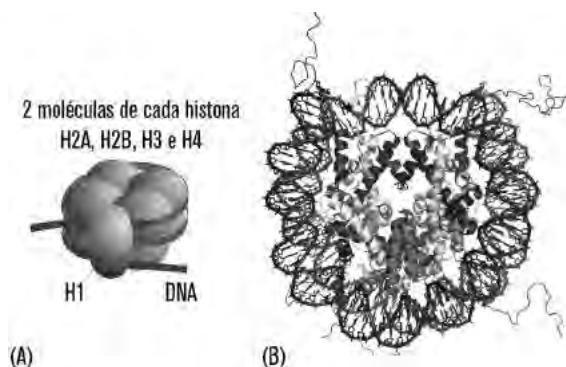
Lâmina nuclear

Apesar de a cromatina associada à lâmina nuclear se encontrar na sua forma transcricionalmente inativa, estudos recentes demonstraram que alguns genes induzíveis são ativados quando se associam com componentes do complexo de poro nuclear. Muitos genes, entretanto, se tornam ativos independentemente desta associação.

Níveis de compactação – Cromossomos interfásicos

Todos os organismos eucariotos apresentam formas elaboradas de empacotar o DNA dos seus cromossomos. Essa tarefa é essencial para que todo o conteúdo de DNA possa caber dentro do núcleo destas células.

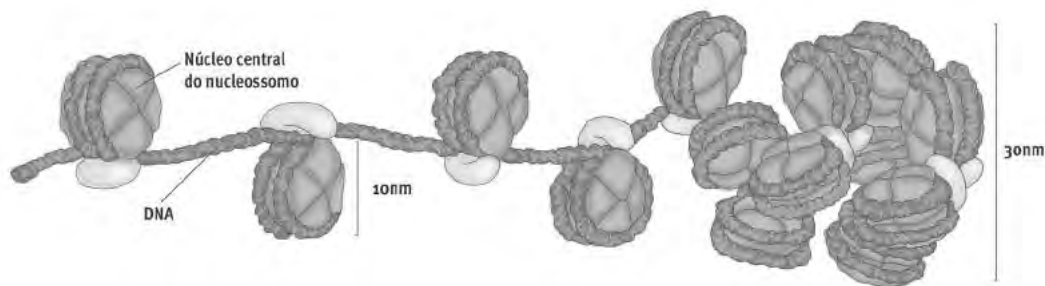
EXEMPLO

Em uma célula humana, se todos os cromossomos fossem estendidos e colocados lado a lado, teríamos uma fita de 2 metros de comprimento, contudo, todo esse DNA deve se encaixar em um núcleo com um diâmetro de somente 5 a 10μM. Sendo assim, mesmo os cromossômicos interfásicos são empacotados de modo ordenado no núcleo celular. Esse empacotamento depende de proteínas pertencentes a dois grupos: **proteínas histonas** e **não histonas.**

As histonas são proteínas pequenas, extremamente abundantes em eucariotos e as principais proteínas da cromatina. Elas apresentam uma grande proporção de aminoácidos básicos (arginina e lisina), o que facilita a ligação à molécula de DNA que é carregada negativamente. Existem cinco tipos principais de histonas – denominadas H1, H2A, H2B, H3 e H4 – as quais são muito similares entre as diferentes espécies de eucariotos. Estas proteínas são responsáveis pelo primeiro e mais básico pelo nível de organização cromossômica: o nucleossomo.

Quando o núcleo de uma célula em interfase é delicadamente rompido e seu conteúdo é examinado ao microscópio eletrônico, a maior parte da cromatina encontra-se na forma de uma fibra com 30nm de espessura. Quando essa cromatina é submetida a um tratamento que a desenrole parcialmente, ela se apresenta sob a forma de um "colar de contas", no qual o colar é o DNA, e cada conta é uma partícula denominada cerne do nucleossomo . Cada cerne consiste de um núcleo formado por histonas no qual o DNA do "colar" se enrola.

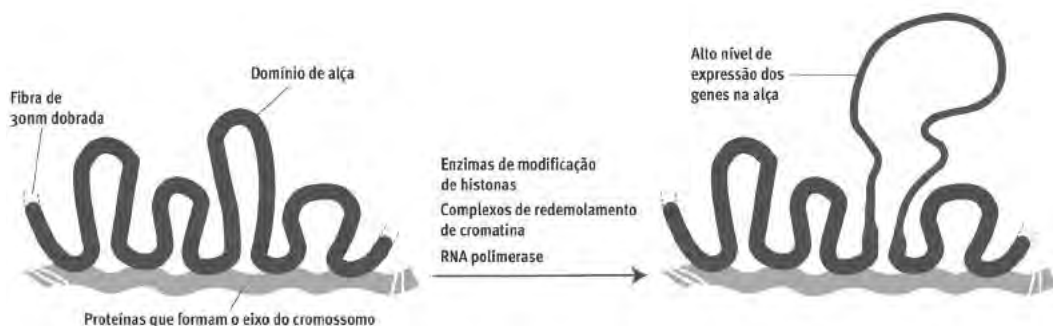
O núcleo de histonas é composto por um complexo de oito histonas, também chamado de octâmero de histonas, ao redor do qual uma fita dupla de DNA, com 147 nucleotídeos de comprimento, está enrolada com 1,7 volta. O octâmero de histonas é formado por duas moléculas de cada uma das histonas H2A, H2B, H3 e H4. Uma única molécula da his-

tona H1 liga-se a cada uma dessas partículas, formando uma subunidade conhecida como cromatossomo, e as partículas do cerne do nucleossomo são separadas umas das outras por um segmento de DNA (DNA de ligação) cujo comprimento pode variar até cerca de 80 pares de bases. O conjunto formado por uma partícula do cerne do nucleossomo mais um de seus DNAs de ligação recebe o nome de nucleossomo. Este termo, entretanto, é frequentemente utilizado como sinônimo para a partícula do cerne do nucleossomo.

Organização estrutural de um nucleossomo: Um nucleossomo contém um cerne de proteínas constituído de oito moléculas de histona. A partícula do cerne pode ser liberada da cromatina isolada através da ação de uma nuclease que digere o DNA de ligação. Após o isolamento do cerne, o comprimento do DNA enrolado através do mesmo pode ser determinado. Seu comprimento, de 147 pares de nucleotídeos, é suficiente para se enrolar 1,7 vez ao redor do cerne de histonas.

Estrutura de um cromatossomo:
(A) A partícula central do nucleossomo é composta de 147 pares de bases de DNA enrolados; 1,7 vez em torno do octâmero de histonas composto por duas moléculas de cada histona (H2A, H2B, H3 e H4). Um cromatossomo contém duas voltas completas de DNA (167 pares de bases) presos, neste local, por uma molécula de H1.
(B) Estrutura cristalina do nucleossoma

Esta organização dos nucleossomos converte uma mólecula de DNA em uma fita de cromatina de aproximadamente 10nm de diâmetro, encurtando o seu comprimento em aproximadamente 6x. Entretanto, a cromatina de uma célula viva em intérfase raramente apresenta-se sob a forma de um "colar de contas". Na verdade, os nucleossomos presentes, nesta fita de 10nm, são compactados, aproximando-se uns dos outros, produzindo arranjos regulares nos quais a molécula de DNA encontra-se mais altamente condensada, formando uma fibra consideravelmente mais espessa, que apresenta cerca de 30nm de diâmetro.

? CURIOSIDADE

A questão de como os nucleossomos são empacotados para a formação desta fibra de 30nm ainda não está clara, mas, interações entre as moléculas de histonas H1 parecem desempenhar um importante papel neste estágio de condensação da cromatina.

Fibras de cromatina: O empacotamento do DNA, em nucleossomos, produz uma fibra de aproximadamente 10nm diâmetro. A cromatina é condensada novamente, em uma fibra de 30nm, contendo cerca de seis nucleossomos por volta. A histona H1 parece ter uma participação importante neste processo.

ATENÇÃO

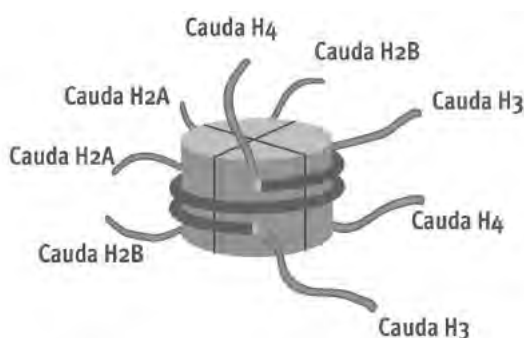
Este, entretanto, não é o último nível de compactação dos cromossomos interfásicos. Embora a base molecular não esteja ainda completamente elucidada, a cromatina interfásica apresenta um nível superior de compactação, na qual ocorre o dobramento da fibra de 30nm em várias alças. Cada alça pode conter de 50 mil a 200 mil pares de nucleotídeos, embora também possam existir alças com um milhão de pares de nucleotídeos. Estas alças formadas na fibra de 30nm são ancoradas em um eixo formado por proteínas não histonas, cuja composição ainda não está definida.

Organização de um cromossomo durante a interfase: Secção de um cromossomo, no qual o mesmo apresenta-se dobrado em várias alças, cada uma contendo certa de 50 a 200 mil pares de bases na dupla -hélice de DNA condensada na fibra de 30nm. A cromatina, em cada alça individual, pode ser condensada ainda mais por processos de compactação ainda não completamente entendidos, os quais são revertidos quando a célula necessita de acesso direto ao DNA empacotado na alça. A composição do eixo ao qual as alças estão associadas ainda não está definida.

Cada alça individual formada nesta estrutura, pode se apresentar em uma forma mais distendida ou mais condensada, dependendo dos níveis de expressão dos genes presentes

em cada alça. As alças distendidas apresentam genes que, em sua maioria, estão sendo expressos. Os genes que se encontram nas regiões não distendidas, ou mais compactadas, da fibra de 30nm não estão sendo expressos. Os processos que geram estes níveis diferentes de compactação das alças, embora ainda não completamente entendidos, são reversíveis e sofrem alterações em respostas às necessidades da célula.

EXEMPLO

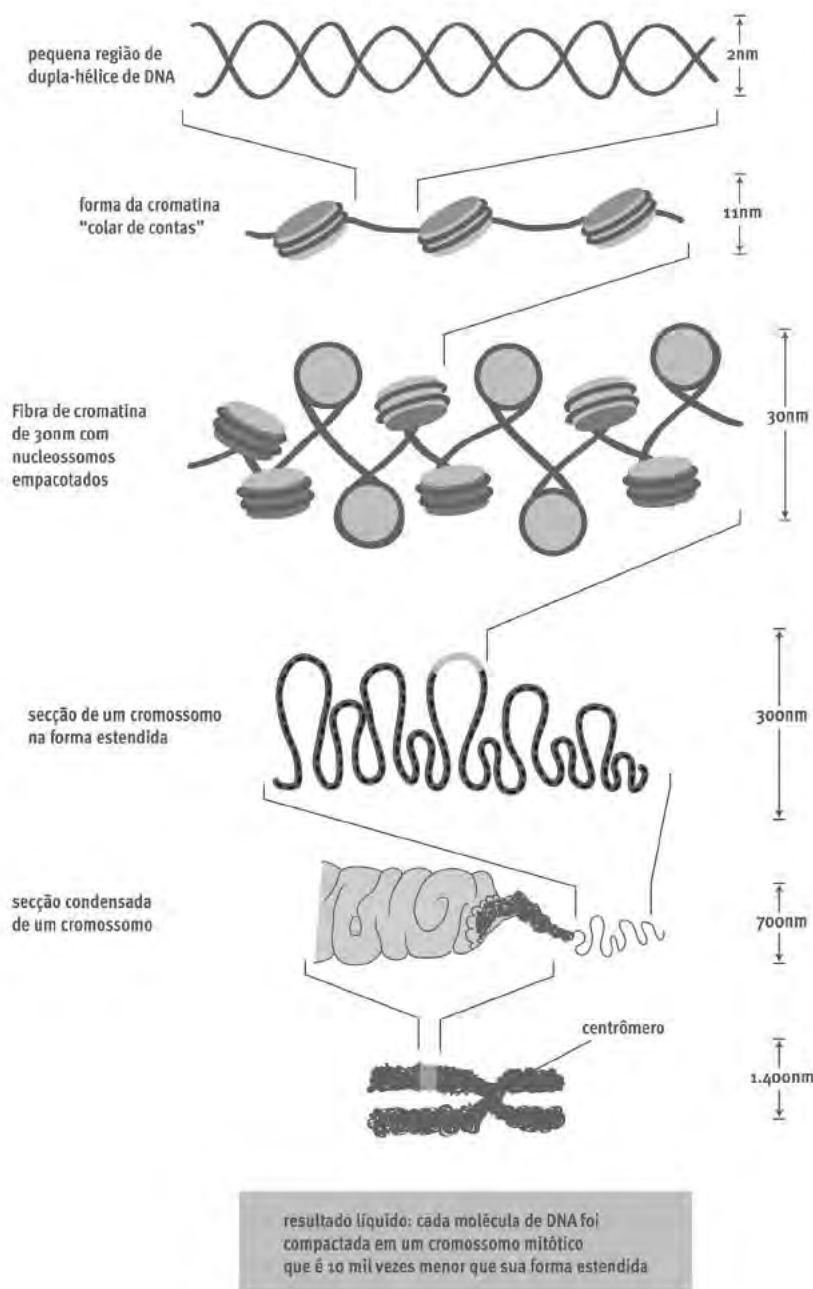
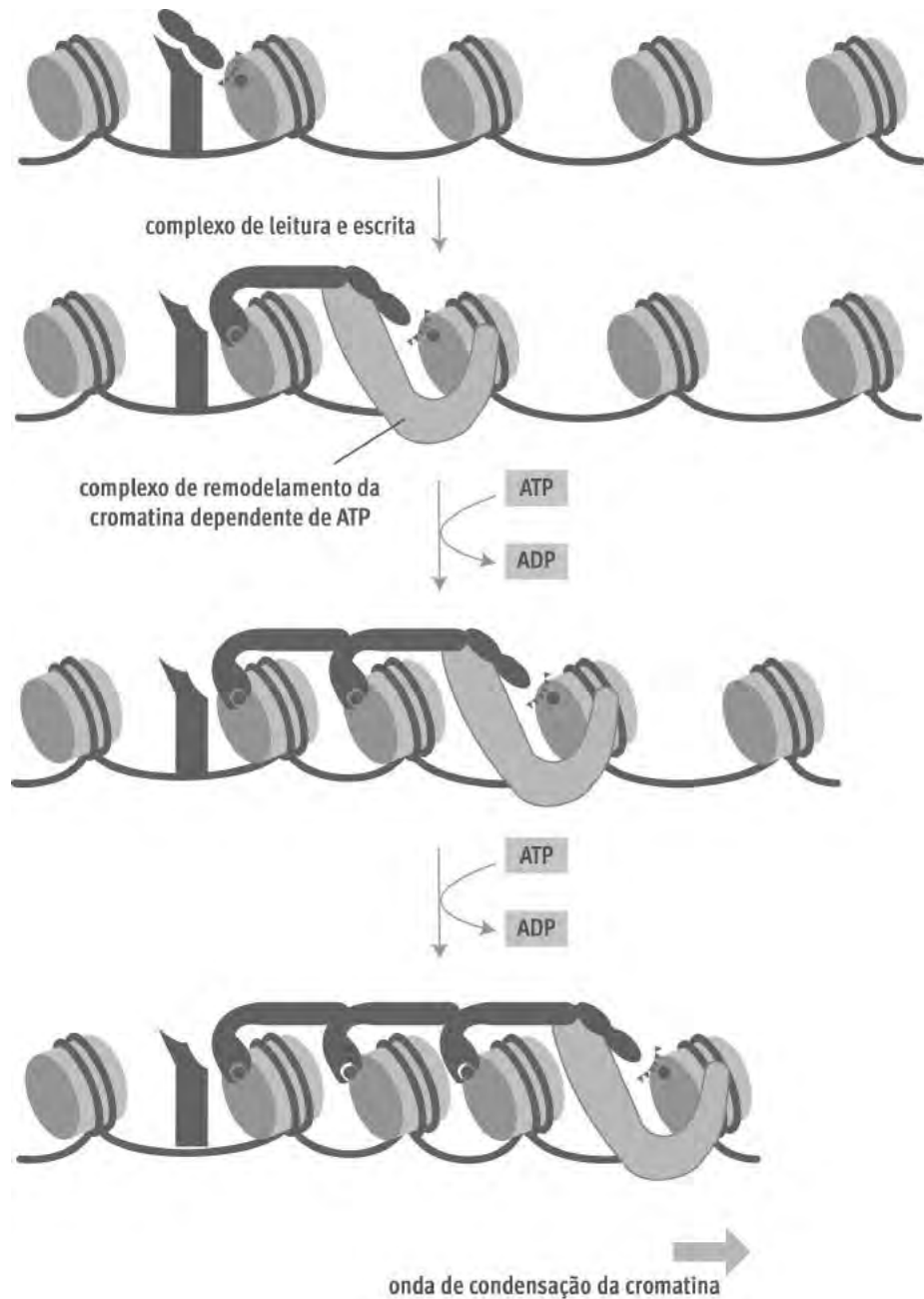
Um bom exemplo dessa organização da fibra de 30nm, em domínios em forma de alças, é fornecido pelos cromossomos dos oócitos de anfíbios, também conhecidos como cromossomos plumosos, os quais são os maiores cromossomos conhecidos. Os cromossomos plumosos são claramente visíveis ao microscópio óptico, onde aparecem organizados em uma série de grandes alças que emanam de um eixo linear do cromossomo.

Remodelamento da Cromatina

Conforme dito anteriormente, a estrutura da cromatina interfásica frequentemente sofre alterações em resposta às necessidades da célula. Os processos de transcrição, por exemplo, requerem um afrouxamento dos contatos entre o DNA e as histonas, de forma que a cromatina passa por processos de remodelamento que diminuem ou aumentam os níveis de compactação à medida que genes são ativados ou desativados.

ATENÇÃO

O controle da célula sobre esses estados de compactação da cromatina depende de complexos proteicos denominados de "complexos de remodelamento da cromatina". As células eucariotas apresentam uma grande variedade de complexos de remodelamento, dependentes de ATP, que usam a energia da hidrólise de ATP para reposicionar os nucleossomos, condensando ou descondensando longos segmentos de cromatina. Estes complexos são direcionados para regiões específicas do DNA, por proteínas de regulação gênica, onde atuarão localmente para influenciar a estrutura da cromatina.

Modelo para as caudas presentes nas histonas: O diagrama mostra os locais aproximados da saída das caudas das oito histonas que formam o cerne. Cada cauda é oriunda de uma histona e se projeta para fora do nucleossomo.

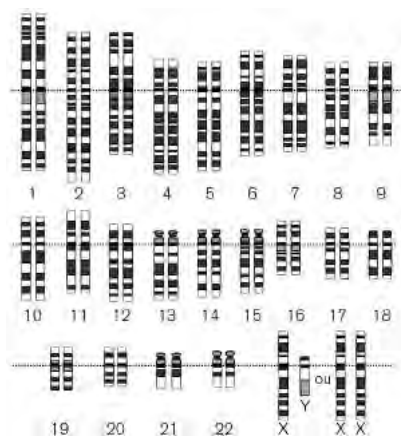
A atuação dos complexos de remodelamento, no sentido de condensar ou descondensar a cromatina, depende de sinais presentes nas histonas que formam o cerne do nucleossomo. Cada histona do cerne possui uma "cauda" N-terminal de aminoácidos que se projeta para fora do nucleossomo e que, provavelmente, permanecem acessíveis mesmo quando a cromatina está condensada.

Estas caudas estão sujeitas a diferentes tipos de modificações, tais como, acetilações, metilações, fosforilações e ubiquitinações, que são cuidadosamente controladas pela célula, criando uma espécie de códigos de histonas que apresentam consequências importantes. Estas modificações atraem proteínas específicas para uma região da cromatina que foi modificada. Estas proteínas, de acordo com o código presente, e com o auxílio dos complexos de remodelamento da cromatina, promovem a condensação ou a descondensação da região cromatínica, determinando desta forma como e quando os genes serão expressos.

Modelo para o remodelamento da cromatina: O diagrama mostra um modelo para a propagação de um estado mais condensado da cromatina. Proteínas que alteram o código das histonas e proteínas que fazem a leitura do código colaboram com as proteínas do complexo de remodelamento para o reposicionamento do nucleossomos, permitindo compactá-los em arranjos mais altamente condensados.

Níveis de compactação – cromossomos mitóticos

Quando a célula entra em mitose, seus cromossomos tornam-se ainda mais condensados para que possam ser distribuídos entre as células-filhas. Nesta fase, que reduz o comprimento de um cromossomo interfásico típico em até 10x, os cromossomos de quase todas as células eucarióticas tornam-se prontamente visíveis ao microscópio óptico. Em um cromossomo mitótico, as duas fitas filhas de DNA produzidas durante a intérfase são dobradas separadamente, produzindo dois cromossomos irmãos, ou cromátides-irmãs, unidas pelo centrômero.

Níveis de compactação da cromatina: O modelo mostra alguns dos níveis de compactação da cromatina, postulados para explicar a estrutura altamente condensada dos cromossomos mitóticos.

CONCEITO

Condensinas

As condensinas são grandes complexos proteicos formados por dímeros de proteínas SMC — *Structural Maintenance of Chromosomes.*

IMAGEM

Pares de cromossomos homólogos

Padrão de bandas dos cromossomos humanos:

Na representação gráfica acima, vemos que os cromossomos de 1 a 22 numerados em ordem aproximada de tamanho. Uma célula somática típica (isto é, célula não germinativa) contêm dois de cada um desses cromossomos, mais dois cromossomos sexuais – dois cromossomos X na fêmea; um cromossomo X e um cromossomo Y no macho. A linha horizontal (em vermelho) representa a posição do centrômero, que aparece como uma constrição nos cromossomos mitóticos. As protuberâncias nos cromossomos 13, 14, 15, 21 e 22 indicam as posições dos genes que codificam os RNAs ribossômicos.

A compactação dos cromossomos, no início da mitose, é um processo altamente organizado que apresenta dois propósitos.

1	Desemaranhar as cromátides-irmãs umas das outras e dispô-las lado a lado, de modo que o fuso mitótico possa puxá-las uma para cada lado, separando-as mais facilmente.
2	Impedir a quebra das fitas de DNA. A compactação dos cromossomos protege as moléculas de DNA, relativamente frágeis, de sofrerem quebras no momento da separação entre as células-filhas.

Durante o período da mitose, a expressão gênica é suspensa e ocorrem modificações específicas nas histonas que auxiliam na reorganização da cromatina à medida que esta é compactada.

A compactação é auxiliada por uma classe de proteínas denominadas ***condensinas***.

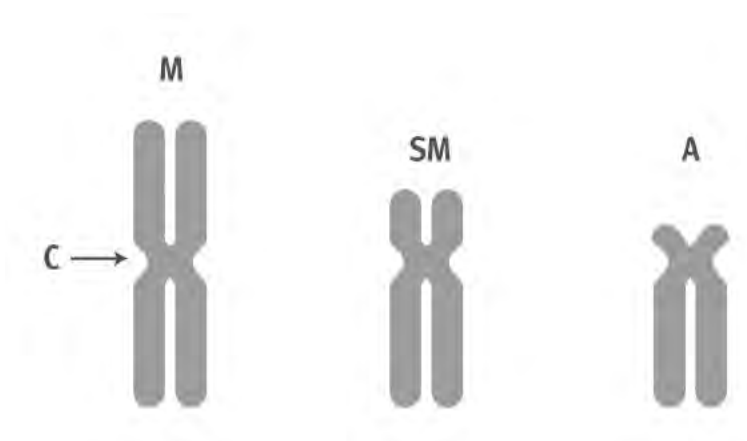
Elas usam a energia da hidrólise de ATP para promover a formação de espirais nas cromátides-irmãs dos cromossomos interfásicos, enrolando grandes segmentos de domínios da cromatina em alças e produzindo os cromossomos mitóticos. Embora ainda não se saiba exatamente de que forma elas atuam para alcançar este nível de compactação, as condensinas são os principais componentes estruturais dos cromossomos mitóticos.

Morfologia dos cromossomos mitóticos

O alto nível de compactação dos cromossomos mitóticos permite que eles sejam estudados morfologicamente com o uso de um microscópio óptico. Várias técnicas de coloração produzem padrões característicos de bandas claras e escuras alternadas, as quais resultam da ligação preferencial de pigmentos a sequências de DNA ricas em AT ou em CG. Essas bandas são específicas para cada cromossomo o que permitiu a identificação e a numeração inicial dos ***pares de cromossomos homólogos***.

CURIOSIDADE

Técnicas mais modernas permitem a identificação dos diferentes cromossomos com cores distintas através da utilização de corantes fluorescentes.

A representação dos 46 cromossomos mitóticos é chamada de cariótipo. Caso parte de um cromossomo seja perdida ou trocada entre os cromossomos, essas alterações podem ser detectadas por diferenças no padrão de bandas ou no padrão de coloração dos cromossomos.

EXEMPLO

Os citogeneticistas usam estas alterações para detectarem anormalidades cromossômicas associadas a defeitos herdáveis, ou para caracterizar certos tipos de câncer que surgem pelo rearranjo de cromossomos específicos nas células somáticas. Além disso, podem ser detectados também o excesso ou a ausência de determinado cromossomo, como ocorre em algumas síndromes como a Síndrome de Down, na qual o indivíduo é portador de três cromossomos 21.

Além de possíveis alterações, a observação dos cromossomos mitóticos ao microscópio óptico permite a detecção de diferenciações morfológicas naturais presentes nos cromossomos, como os centrômeros e os telômeros.

O centrômero, visto como uma constrição nos cromossomos mitóticos é uma região especializada que desempenha um papel decisivo, assegurando a distribuição correta das cromátides-irmãs para as células-filhas durante a mitose. Eles são compostos por sequências específicas de DNA as quais as proteínas se associam formando um complexo proteico denominado de cinetócoro, através do qual o fuso mitótico se liga ao cromossomo.

A posição do centrômero, em um determinado cromossomo, é constante, permitindo que estes possam ser classificados como metacêntricos, quando localizado na região mediana do cromossomo; submetacêntricos, se deslocado para um dos braços do cromossomo; e acrocêntrico ou telocêntrico, se posicionado em uma das extremidades do cromossomo.

Nomenclatura dos cromossomos em função do posicionamento dos centrômeros (C):
M – metacêntrico;
SM – submetacêntrico;
A – acrocêntrico ou telocêntrico.

As extremidades dos cromossomos recebem a denominação de telômeros. Estas regiões contêm sequências repetidas de nucleotídeos que permitem que as extremidades dos cromossomos sejam eficientemente replicadas. Além disso, os telômeros formam estruturas que protegem as extremidades cromossômicas, impedindo que estas sejam confundidas pela célula com moléculas de DNA quebradas que necessitam ser reparadas. Quando acidentalmente ocorrem perdas de regiões teloméricas, em diferentes cromossomos, estes podem se fundir, gerando anomalias cromossômicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTS, B. et al. *Biologia Molecular da Célula.* 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

BATSIOS, P.; PETER, T.; BAUMANN, O.; STICK, R.; MEYER, I.; GRÄF, R. *A lamin in lower eukaryotes?* Nucleus. v.3 (3). 2012. p. 237-243.

CARVALHO, H. F.; RECCO-PIMENTEL, *S. M. A célula.* 2. ed. Barueri: Manole, 2007.

CHEUNG, A. Y.; REDDY, A. S. N. *Nuclear architecture and dynamics: territories, nuclear bodies, and nucleocytoplasmic trafficking.* In: *Plant Physiology.* v. 158. 2012. p. 23–25.

COOPER, G. M.; HAUSMAN, R. E. *A célula uma abordagem molecular.* 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007.

GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. *Tratado de Histologia.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

GROSSMAN, E.; MEDALIA, O.; ZWERGER, M. *Functional Architecture of the Nuclear Pore Complex.* Annu. In: *Rev. Biophys.* v. 41, 2012. p. 557–84.

MEIER, I. *Composition of the plant nuclear envelope: theme and variations.* In: *Journal of Experimental Botany*. v. 58(1), 2007. p. 27–34.

RODRIGUEZ, A.; BJERLING, P. *The links between chromatin spatial organization and biological function.* In: *Biochem.* Soc. Trans. v. 41, 2013. p. 1634–1639.

ROTHBALLER, A.; KUTAY, U. *The diverse functional LINCs of the nuclear envelope to the cytoskeleton and chromatin.* In: *Chromosoma.* v. 122, 2013. p. 415–429.

SCHOOLEY, A.; VOLLMER, B.; ANTONIN, W. *Building a nuclear envelope at the end of mitosis: coordinating membrane reorganization, nuclear pore complex assembly, and chromatin de-condensation.* In: *Chromosoma.* v. 121, 2012. p. 539–554.

SHAW, P.; BROWN, J. *Nucleoli: composition, function, and dynamics.* In: *Plant Physiology.* v. 158, 2012. p. 44–51.

IMAGENS DO CAPÍTULO

5

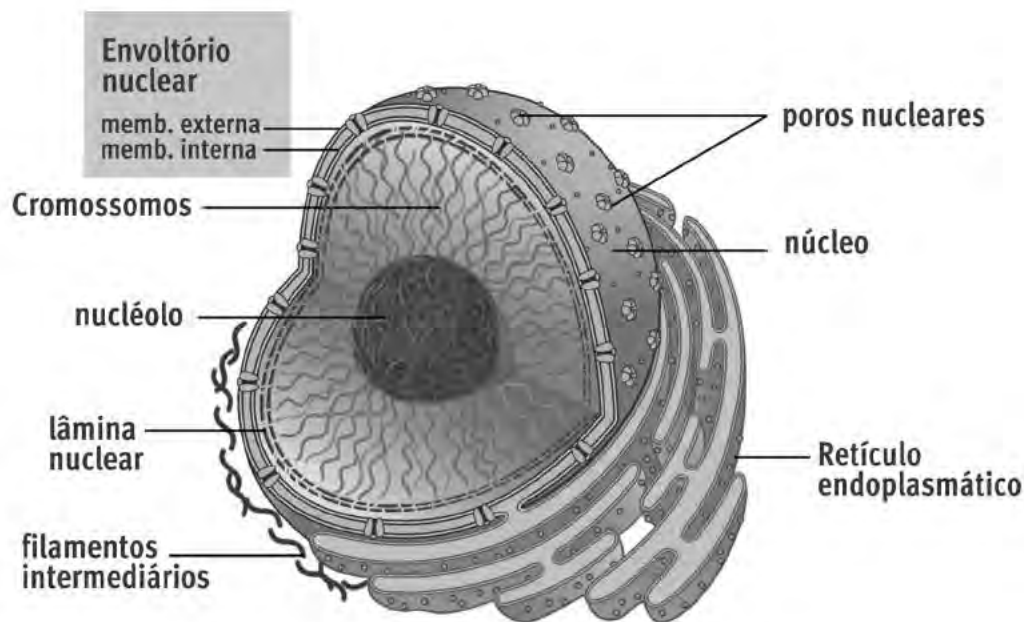
Componentes citoplasmáticos

GUSTAVO COELHO

5

Componentes citoplasmáticos

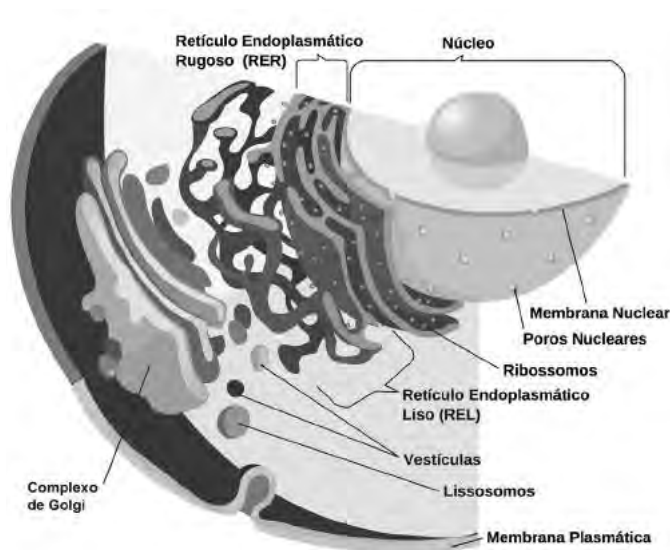
Organelas celulares

Núcleo, retículo endoplasmático, complexo de Golgi, ribossomos, endossomos, lisossomos, peroxissomos, mitocôndrias são as organelas celulares que desempenham diversos papéis. Inicialmente serão mencionadas as principais funções de cada uma delas para, em seguida, abordar os mecanismos de síntese e distribuição das proteínas destinadas ao citoplasma, para as organelas e para o meio externo. A figura abaixo mostra uma visão geral da distribuição das organelas no interior da célula.

Estrutura celular. Organização e distribuição das organelas em uma célula eucariótica.

Principais Funções

Núcleo

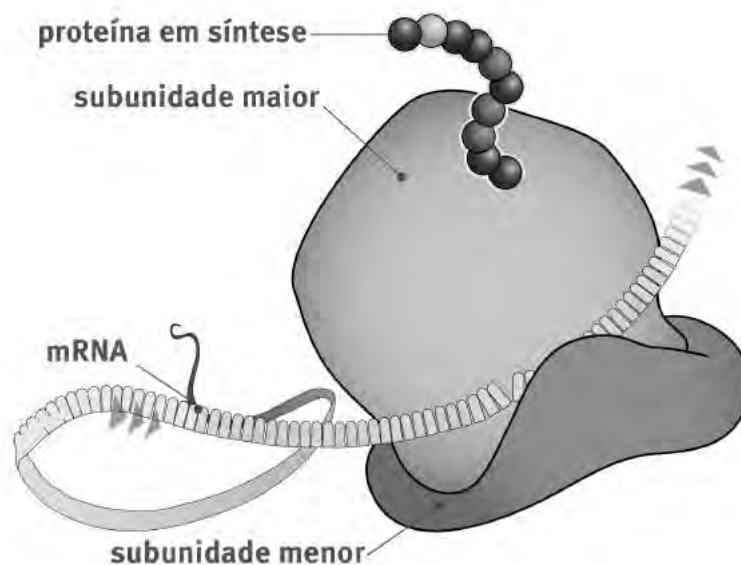
Está presente em células eucarióticas. É delimitado pelo **envelope nuclear** composto por duas membranas concêntricas revestidas internamente por lâminas nucleares (um tipo de filamento intermediário) que conferem forma e resistência ao núcleo.

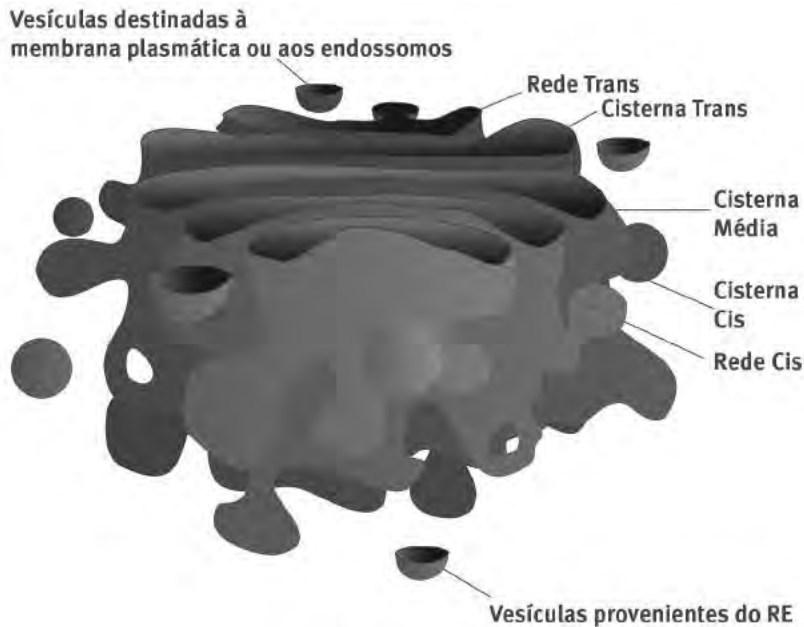
Núcleo celular. O envelope nuclear é constituído por uma dupla membrana com poros. No interior do núcleo encontram-se os cromossomos e o nucléolo. Note a presença da lâmina nuclear revestindo o núcleo e a continuidade do envelope nuclear com a membrana do retículo endoplasmático.

ATENÇÃO

É no núcleo que se encontra o **material genético.** Na espécie humana, o genoma é composto por 46 longas moléculas de DNA que constituem os cromossomos das células somáticas (ou 23 cromossomos nas células germinativas). É no núcleo que novas moléculas de DNA serão produzidas em células que estão prestes a se dividirem. Também no núcleo há intensa síntese de RNA. O envelope nuclear apresenta poros que permitem o transporte de macromoléculas tanto em direção ao núcleo quanto ao citoplasma como vimos no capítulo 4.

Retículo Endoplasmático

É encontrado normalmente entre o núcleo e o complexo de Golgi. É formado por um conjunto de membranas que possui continuidade com o envelope nuclear. É constituído por uma série de túbulos e sacos achatados interconectados. Pode ser dividido em **Retículo Endoplasmático Rugoso** (RER) e **Retículo Endoplasmático Liso** (REL). O RER possui ribossomos associados à membrana (resultando em um aspecto rugoso) e o REL não apresenta ribossomos aderidos à membrana. Os ribossomos são estruturas responsáveis pela síntese de proteínas, o que justifica a produção de proteínas observada no RER.

Retículo endoplasmático. O retículo é dividido em retículo endoplasmático rugoso que apresenta ribossomos associados e retículo endoplasmático liso que não possui ribossomos aderidos.

O REL armazena enzimas envolvidas com o processo de desintoxicação, é o principal local de armazenamento de íons Ca+2 e possui enzimas que participam da síntese de esteroides, por isso, apesar de o REL ser pouco desenvolvido na maioria das células, ele é bastante proeminente no fígado, tecido muscular e glândulas adrenais, respectivamente.

O RER juntamente com o REL participa do processo de glicosilação (adição de açúcares) de proteínas e síntese de lipídios.

Ribossomos

São as estruturas responsáveis pela síntese proteica. Cada ribossomo é constituído por uma subunidade maior e outra menor. Ambas são formadas por uma mistura de RNAs ribossomais e proteínas ribossomais. Em eucariotos, a subunidade maior apresenta cerca de 49 proteínas e 3 moléculas de RNAr e a subunidade menor possui em torno de 33 proteínas e 1 RNAr. Os ribossomos de procariotos são bastante semelhantes. Proteínas são fabricadas à medida que o ribossomo percorre a extensão dos RNAm (mensageiro) traduzindo-os.

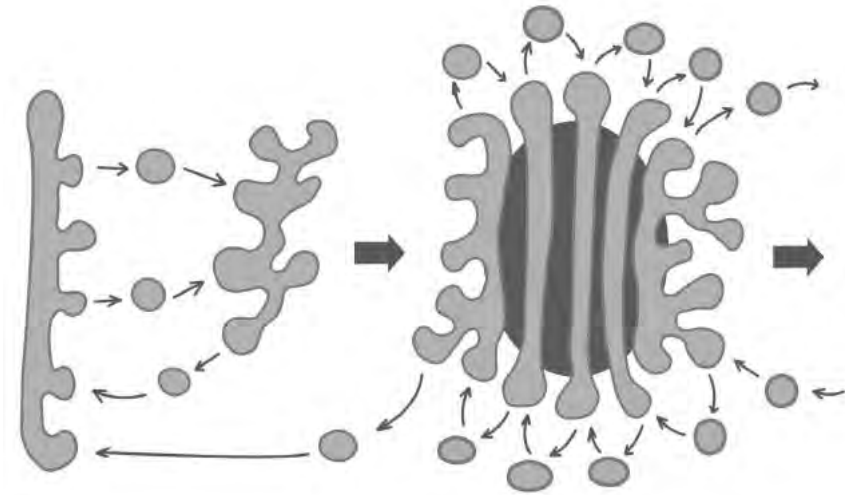
Complexo de Golgi (CG) ou Aparelho de Golgi

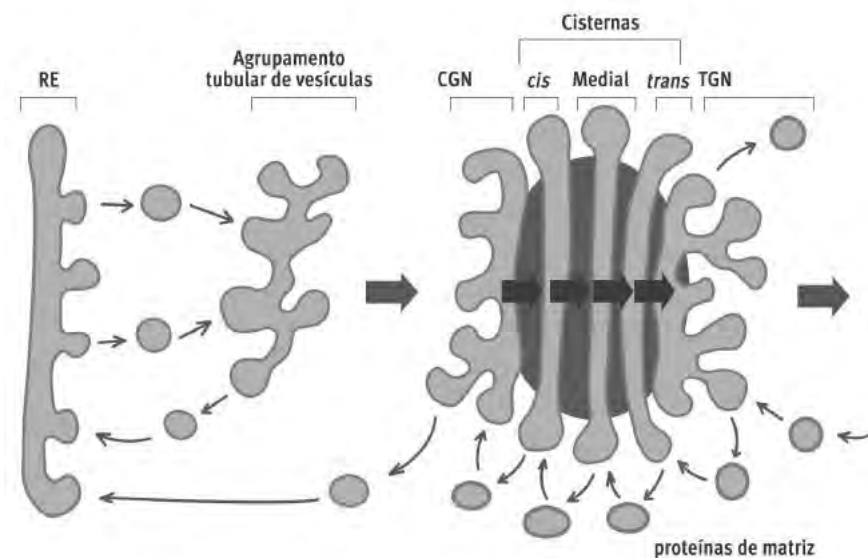
Foi inicialmente descrito por ***Camilo Golgi***, em 1898. Está localizado normalmente entre o retículo endoplasmático e a membrana plasmática. É formado por uma unidade polarizada, constituída por uma série de pequenos sacos e compartimentos achatados delimitados por membrana, chamados de *cisternas*. A face do complexo de Golgi voltada para o retículo endoplasmático é a *face cis* e a face voltada para a membrana plasmática é a *face trans*.

Complexo de Golgi. A estrutura do complexo de Golgi é composta por: Rede cis (numerosos tubos e sacos interconectados), cisterna cis (cisterna conectada à rede cis), cisterna média (não está conectada a nenhuma outra cisterna), cisterna trans (conectada à rede trans) e rede trans (similar à rede cis). Note que vesículas transportadoras chegam e saem do CG e ainda conectam as cisternas.

O CG recebe proteínas e lipídios do retículo endoplasmático através de vesículas transportadoras. No CG essas moléculas sofrem ação de várias enzimas que promovem modificações, tais como: glicosilação (adição de carboidratos), fosforilação (adição de fosfato), sulfatação (adição de enxofre) e proteólise (clivagem por ação enzimática) para, em seguida, serem direcionadas para outros compartimentos celulares ou exportadas para o meio extracelular. Células com intensa atividade secretória normalmente apresentam complexo de Golgi bastante desenvolvido.

Ainda não está bem definido como exatamente ocorre o transporte de proteínas entre os compartimentos do complexo de Golgi. No entanto, existem dois modelos que apontam para uma explicação.

AUTOR

Camilo Golgi

Camilo Golgi, médico e histologista italiano , célebre pelo seu estudo de células nervosas, de onde obteve provas de uma rede irregular de fibrilas, grânulos e cavidades, que posteriormente seria dado o nome de Complexo de Golgi.

O **modelo do transporte vesicular** sugere que as cisternas do complexo de Golgi formariam uma estrutura **estática** e que, o transporte de proteínas entre os compartimentos ocorre através de **vesículas transportadoras** em direção à face cis e trans.

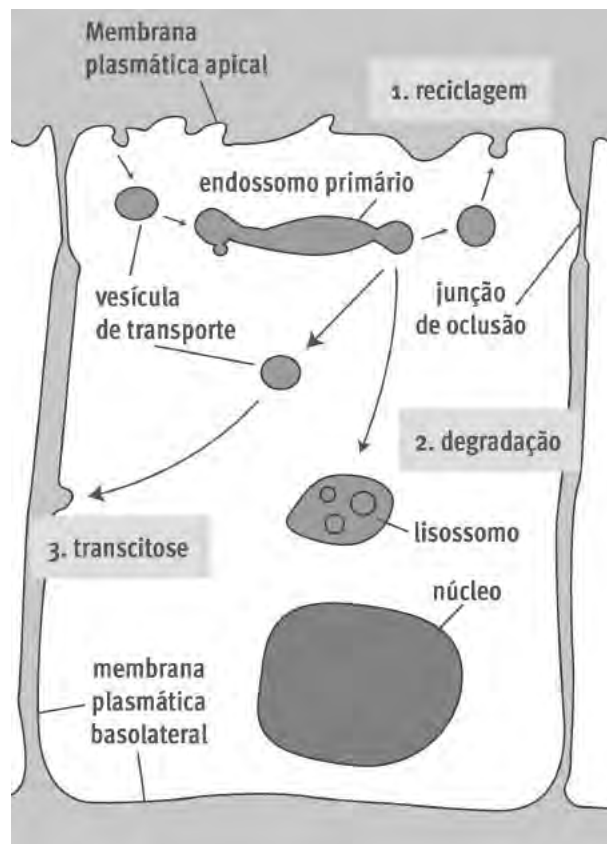
Modelo do transporte

O **modelo da maturação das cisternas** afirma que as cisternas do complexo de Golgi formariam uma estrutura **dinâmica.** A maturação das cisternas é acompanhada pelo contínuo deslocamento delas. Por exemplo, a rede *cis* seria progressivamente maturada em cisternas *cis,* cisternas mediais, cisternas *trans* e, finalmente, em rede *trans.* Note que, por este modelo, há um movimento retrógrado responsável pelo contínuo reposicionamento das enzimas presentes nas diferentes cisternas do complexo de Golgi.

Modelo da maturação de cisternas

Endossomos

Os endossomos estão localizados entre o complexo de Golgi e a membrana plasmática, recebendo material proveniente da endocitose.

ATENÇÃO

Os endossomos são divididos em:

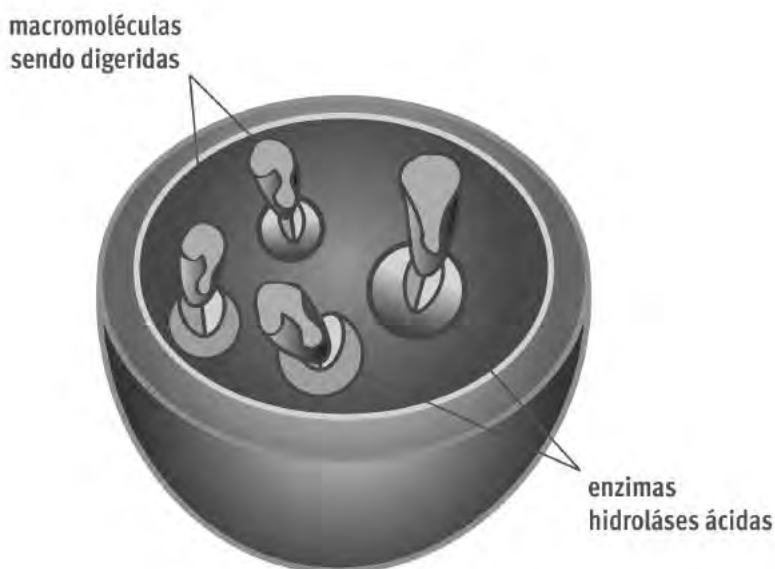
Primários (ou iniciais) – encontram-se bem próximos à membrana plasmática.

Secundários (ou tardios) – estão mais próximos ao núcleo.

Quando ocorre endocitose, líquidos extracelulares, moléculas dissolvidas, receptores e fragmentos da membrana são internalizados e incorporados ao endossoma primário. Uma parte da membrana e dos receptores endocitados é devolvida à membrana plasmática. Na membrana dos endossomos há bombas de H+ que transferem prótons (com consumo de ATP) para o interior do endossomo, tornando o pH mais ácido (~6,0). Quando isto acontece, parte dos receptores se dissociam dos ligantes, podendo ser novamente direcionados à membrana plasmática. Aqueles receptores que ainda permanecerem associados aos ligantes serão direcionados para os lisossomos para serem degradados ou encaminhados para um lugar diferente da membrana plasmática (transcitose).

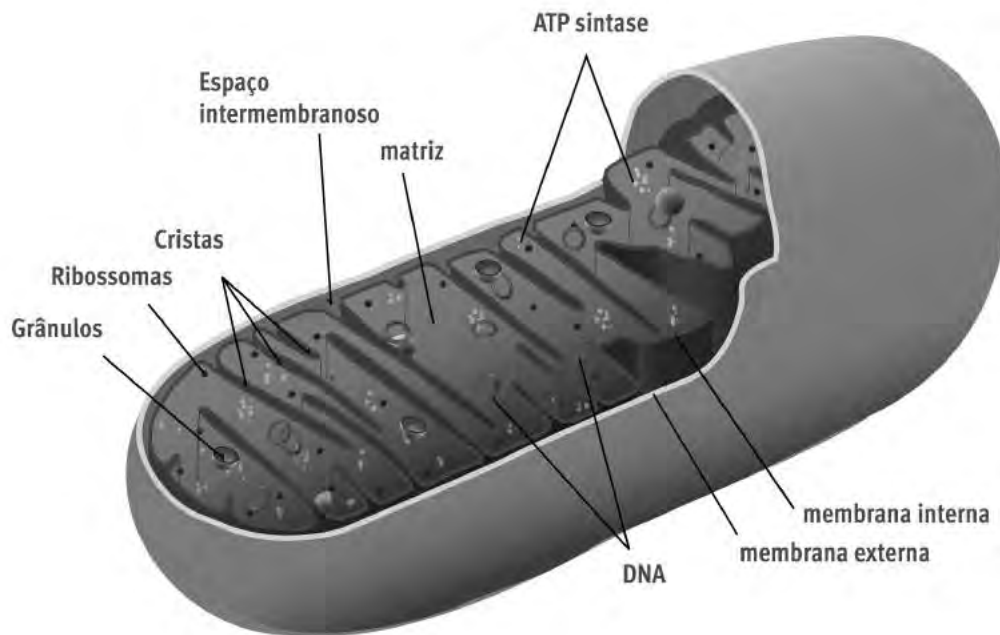
Destinos dos receptores envolvidos na endocitose. Os receptores podem retornar para a membrana (1), podem ser degradados nos lisossomos (2), serem direcionados para outro domínio na membrana por transcitose (3).

Lisossomos

São formados a partir de vesículas que se destacaram da rede *trans* do complexo de Golgi. Estão carregadas de enzimas hidrolíticas ácidas que foram inicialmente produzidas no RER e transferidas para o CG. Constituem o principal local de **digestão** do material obtido por endocitose (pinocitose e fagocitose) e de **reciclagem** das macromoléculas que não são mais úteis à célula.

? CURIOSIDADE

Os lisossomos possuem mais de 50 hidrolases ácidas, envolvidas na degradação de macromoléculas das células, incluindo proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos e lipídios. Mutações em genes que codificam hidrolases que promovam a perda da atividade de alguma dessas enzimas lisossomais, resultam no acúmulo de macromoléculas no interior do lisossomo. O acúmulo de macromoléculas pode atingir níveis tóxicos para as células ocasionando as chamadas Doenças lisossômicas de Depósito, como exemplo pode-se citar a síndrome de Gaucher .

- Síndrome de Gaucher é caracterizada por acúmulo do lipídio glicocerebrosídeo em decorrência da ausência da atividade da enzima glicosilceramidase. Indivíduos com Gaucher normalmente possuem fígado e baço aumentados. Desconforto abdominal, fadiga, dores e fraturas espontâneas nos ossos, cirrose são sintomas característicos.

A membrana dos lisossomos possui uma bomba de H+ (prótons) associada ao consumo de ATP que transfere íons H+ do citoplasma em direção ao interior do lisossomo, assegurando a manutenção do pH lisossomal em torno de 5,0 (pH ideal para a ativação das enzimas hidrolíticas). Para evitar que a membrana do lisossomo seja alvo de digestão através da ação das suas próprias enzimas hidrolíticas, a face interna da membrana possui glicoproteínas que fornecem um revestimento de açúcares, protegendo a membrana do lisossomo da ação enzimática. Se mesmo assim, ocorrer algum incidente e a membrana do lisossomo for rompida, os demais compartimentos celulares não são afetados, uma vez que, o pH citosólico está em torno de 7,2, não favorecendo a atividade das enzimas lisossomais.

Digestão de macromoléculas no interior do lisossomo.

Outro evento que tem a participação dos lisossomos é a **autofagia.** Quando algum componente envelhecido da célula (uma organela, por exemplo) não executa adequadamente uma função, é prontamente englobado por uma dupla membrana (chamada de autofagossomo) e direcionado para o interior do lisossomo, para ser destruído e os seus nutrientes reciclados, conforme visto no capítulo 2.

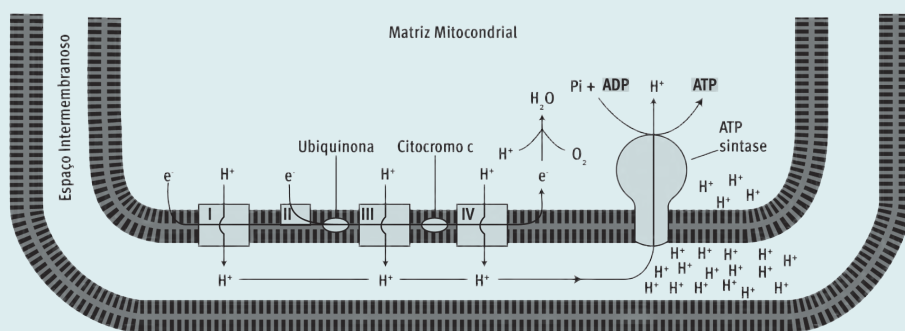
Mitocôndria

Organela presente em quase todas as células eucarióticas. Possui estrutura diferenciada formada por **duas membranas** (membrana externa e interna), sendo o espaço entre as duas membranas chamado de **espaço intermembrar.** A membrana interna possui invaginações (**cristas mitocondriais**) que se projetam em direção ao interior da mitocôndria (**matriz mitocondrial**).

Estrutura da mitocôndria: Repare a presença da dupla membrana, DNA, ribossomos e a enzima ATP sintase.

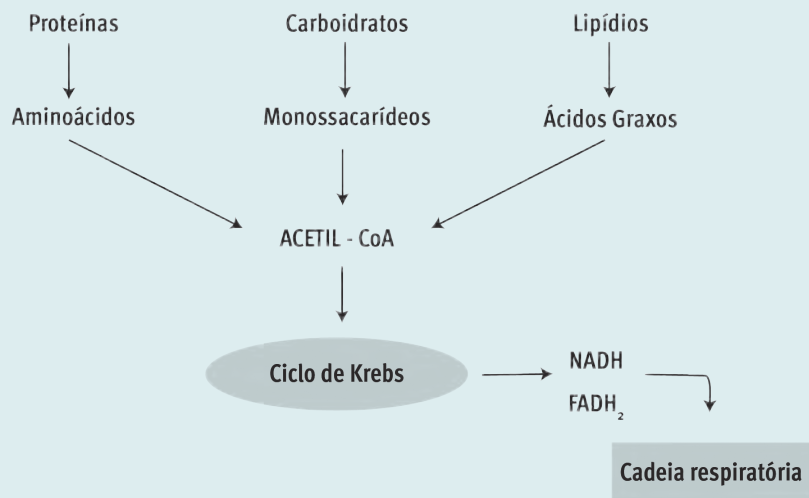
? CURIOSIDADE

Cardiolipina (difosfatidilglicerol) é um glicerofosfolipídio duplo constituído por dois ácidos fosfatídicos unidos através de uma terceira molécula de glicerol. A cardiolipina é encontrada principalmente na membrana interna da mitocôndria. Alterações no conteúdo e/ou estrutura da cardiolipina têm sido reportadas em diversos tecidos em vários estados patológicos, como: isquemia, envelhecimento, insuficiência cardíaca, doenças neurodegenerativas, alcoolismo crônico e diabetes.

Como é possível a mitocôndria constituir o principal local de produção de **energia** na célula?

Graças ao processo de fosforilação oxidativa que consiste na fosforilação do ADP (difosfato de adenosina) em ATP (trifosfato de adenosina) a partir de reações de oxidação-redução. Para entender melhor este processo, lembre-se de alguns pontos importantes:

▪ As reações de oxidação dos nutrientes como carboidratos, lipídios e proteínas convergem para a produção, na mitocôndria, de uma molécula-chave do metabolismo energético, a molécula de **acetil-CoA** (uma acetila associada à coenzima A);

▪ Ainda na mitocôndria, as moléculas de acetil-CoA são oxidadas a CO_2 e H_2O no **ciclo do Ácido Cítrico (ou Ciclo de Krebs)**. As reações de oxidação liberam elétrons que são incorporados às coenzimas **NAD^+ (nicotinamida adenina dinucleotídeo)** e **FAD (flavina adenina dinucleotídeo),** reduzindo-as à **NADH** e **$FADH_2$**;

▪ As moléculas de **NADH** e **$FADH_2$** serão reoxidadas novamente à **NAD^+** e **FAD** na **cadeia respiratória** ou **cadeia transportadora de elétrons;**

Catabolismo de macroléculas: O catabolismo dos nutrientes produz moléculas de acetil-CoA que são oxidadas no ciclo de Krebs (ou ciclo do ácido cítrico) produzindo as coenzimas reduzidas NADH e $FADH_2$. Essas coenzimas serão reoxidadas na cadeia respiratória.

▪ A **cadeia respiratória** ou **cadeia transportadora de elétrons** é formada por **quatro complexos enzimáticos** localizados na membrana interna da mitocôndria. Os elétrons provenientes da oxidação das coenzimas NADH e $FADH_2$ fluem ao longo da cadeia respiratória até alcançarem o átomo de **oxigênio** (receptor final de elétrons). Acoplado ao transporte de elétrons há um **bombeamento de íons H^+ (prótons)** para o espaço intermembranar;

▪ O bombeamento de íons H^+ promove a formação do gradiente eletroquímico de H^+. Os íons H^+ acumulados no espaço intermembranar podem retorna à matriz mitocondrial atravessando a enzima **ATPsintase** localizada na membrana interna da mitocôndria. A enzima ATPsintase é ativada pela passagem de H^+ promovendo a fosforilação de ADP em **ATP (fosforilação oxidativa).**

Cadeia respiratória: Fluxo de elétrons (e^-) provenientes do NADH e $FADH_2$ acoplado a um bombeamento de H^+ para o espaço intermembranar. Prótons H^+ retornando para a matriz mitocôndria ativando a enzima ATPsintate, responsável pela síntese de ATP

Diferentemente de outras organelas, a mitocôndria possui **DNA próprio.** O DNA mitocondrial apresenta genes que codificam para a síntese de 13 RNAm, 22 RNAt e 2 RNAr. A maioria das 13 proteínas sintetizadas por ribossomos mitocondriais pertencem à cadeia respiratória. Portanto, a maior parte das proteínas mitocondriais é codificada por **genes nucleares**, produzidas no citoplasma celular e direcionadas, posteriormente, para a mitocôndria.

? CURIOSIDADE

Teoria da endossimbiose

Acredita-se que as mitocôndrias (e também os cloroplastos, como será mencionado a seguir) eram, em um passado distante, bactérias aeróbicas que foram incorporadas por células eucarióticas anaeróbicas. Desta forma, as bactérias forneceriam energia às células hospedeiras, pois o metabolismo aeróbico é muito mais eficiente do que o anaeróbico, enquanto estas ofereceriam maior proteção com relação ao meio externo.

COMENTÁRIO

Algumas evidências corroboram para a sustentação da Teoria da Endossimbiose: mitocôndria e bactéria dividem algumas características. Assim como muitas bactérias, a mitocôndria possui duas membranas. Ambas apresentam DNA circular e se dividem por fissão.

? CURIOSIDADE

O **DNA mitocondrial** de todas as nossas células é de **origem materna.** No momento da fecundação, as mitocôndrias presentes nos espermatozoides não penetram no óvulo. De modo que, as mitocôndrias da nova célula são herdadas apenas do óvulo.

CONCEITO

Proplastídeos

Os proplastídeos são herdados com o citoplasma das células-ovo vegetais e à medida que as células se diferenciam, os proplastídeos podem originar plastídeos de armazenamento, cromoplastos ou cloroplastos de acordo com as necessidades celulares.

CONCEITO

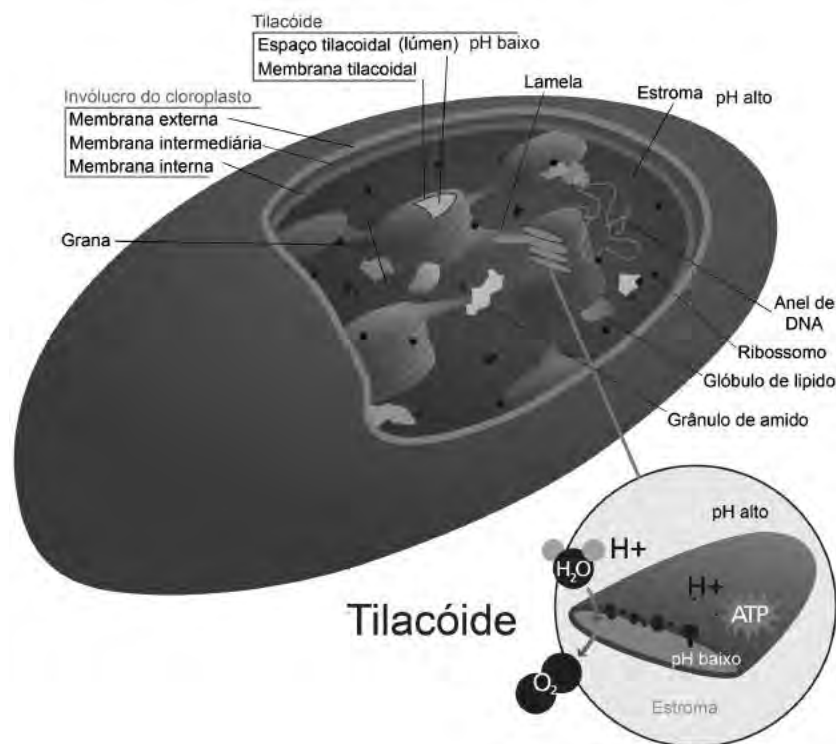
Três compartimentos

O **espaço intermembranas,** como o próprio nome sugere, corresponde ao compartimento localizado entre as duas membranas do envelope do cloroplasto. O **estroma** é delimitado pela membrana interna (é análogo à matriz mitocondrial) e representa a maior parte do cloroplasto. Assim como as mitocôndrias, os cloroplastos possuem DNA próprio localizado no estroma, bem como, RNAs, ribossomos, proteínas e enzimas.

O **espaço tilacoide** é o terceiro compartimento. É formado pelos tilacoides que são estruturas com o aspecto de sacos achatados. Eles frequentemente encontram-se agrupados de modo semelhante a uma pilha de moedas, formando uma estrutura chamada de granum ou grana. Acredita-se que os lúmens dos tilacoides estejam interligados.

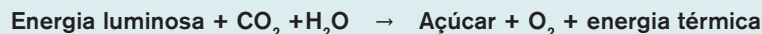
Cloroplasto

Os cloroplastos fazem parte da família dos **plastídeos.** Todos os plastídeos são originados de ***proplastídeos*** herdados a partir do citoplasma de células-ovo vegetais. De acordo com diferenciação da célula vegetal, os proplastídeos se desenvolvem podendo originar:

Cloroplastos (presentes em folhas e estruturas vegetais de coloração verde),

Cromoplastos que armazenam pigmentos (conferem coloração às pétalas, aos frutos e às raízes em várias espécies vegetais),

Plastídeos de armazenamento de amido (em tubérculos, por exemplo)

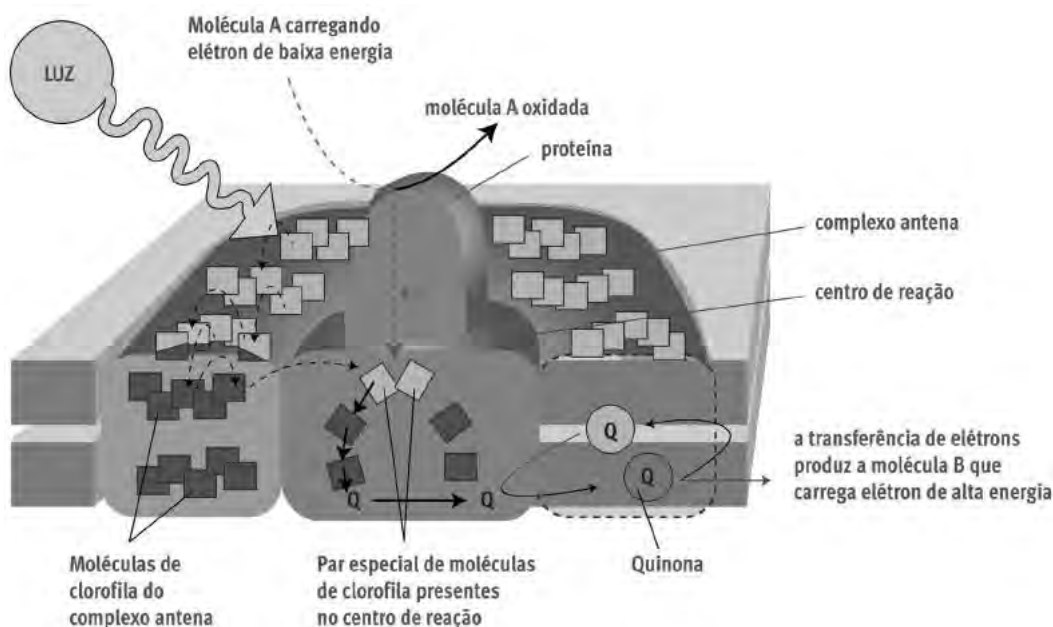
Lipídios (em sementes de oleaginosas).

Os cloroplastos são delimitados por duas membranas. A membrana externa é bastante permeável, enquanto a membrana interna é muito menos permeável. Juntas as membranas constituem o **envelope do cloroplasto.**

Analisando a estrutura dos cloroplastos é possível observar a presença de ***três compartimentos*** (diferentemente da mitocôndria que possui apenas dois): **espaço intermembranas,** o **estroma** e o **espaço tilacoide.**

Esquema gráfico de um cloroplasto.

A fotossíntese

A fotossíntese é um processo que ocorre nos **cloroplastos** onde a energia luminosa é utilizada para a fixação de carbono. Ao longo deste evento, moléculas de água são quebradas resultando na liberação de O_2. A fotossíntese é sumariamente resumida a seguir:

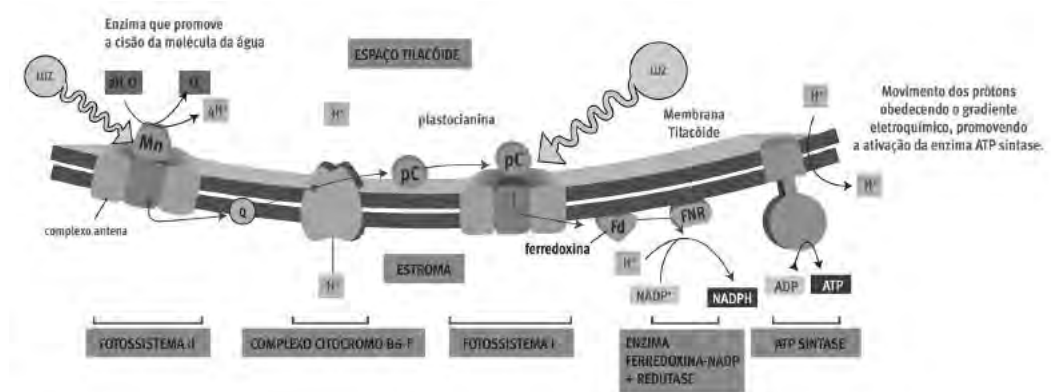
Energia luminosa + CO_2 +H_2O → Açúcar + O_2 + energia térmica

Para entender melhor este processo apresentado brevemente no capítulo 2, é necessário destacar alguns pontos importantes:

A fotossíntese é constituída por dois estágios.

Estágio I (Dependente de luz)

A membrana dos tilacoides possui complexos proteicos chamados de fotossistemas. Os **fotossistemas** são formados por um **complexo antena** responsável pela captura de energia e um **centro de reação** que converte a energia luminosa em energia química.

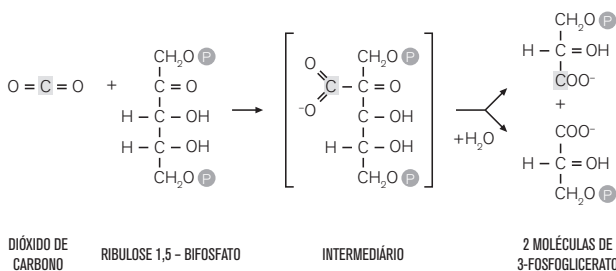
O **complexo antena** possui várias moléculas do pigmento verde **clorofila.** No **fotossistema II,** a absorção de um fóton presente na energia luminosa excita o elétron de uma das moléculas de clorofila presentes no complexo antena, passando a um estado de maior energia. O elétron de maior energia é repassado pelas moléculas de clorofila até alcançar um *par especial* de clorofilas localizadas no **centro de reação.** O elétron doado pela molécula inicial de clorofila presente no sistema antena é reposto através da quebra da molécula de água que promove a **liberação de H^+ e O_2.**

Estrutura do fotossistema. O fotossistema apresenta o complexo antena que é capaz de coletar energia dos elétrons excitados pela luz e direcioná-la (representada pelas setas vermelhas) para um par de clorofilas especiais situadas no centro de reação. O centro de reação transfere um elétron de alta energia para uma quinona e esta, por sua vez, conduz o elétron para a cadeia transportadora de elétrons localizada

na membrana dos tilacoides. A proteína do centro de reação adquire elétrons de baixa energia para que o sistema retorne ao estado original não excitado.

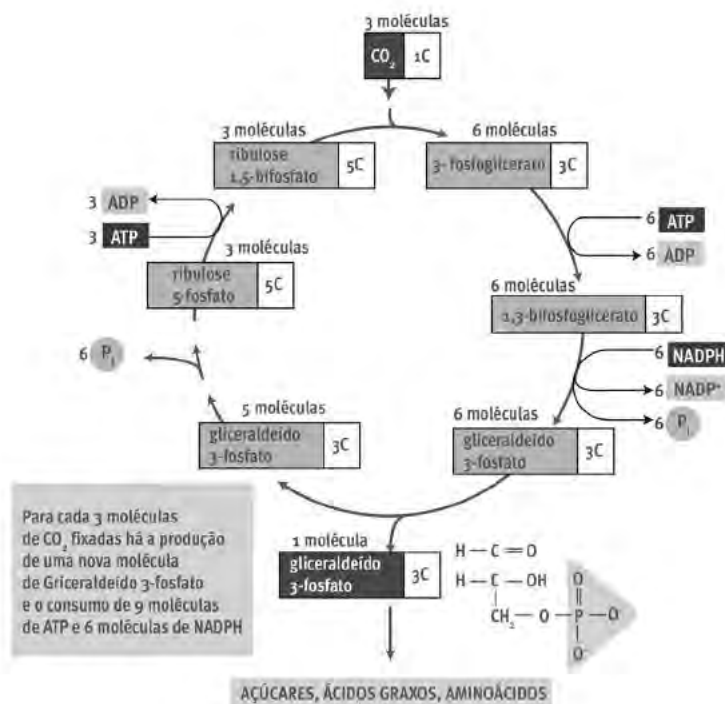
O **centro de reação,** formado por diversas proteínas transmembranas e pigmentos, repassa o elétron de alta energia para a cadeia transportadora de elétrons localizada na membrana dos tilacoides, via um carregador móvel chamado **plastoquinona** (que é semelhante à ubiquinona da mitocôndria). O elétron de alta energia flui através da cadeia transportadora de elétrons passando pelo **complexo citocromo b6-f,** pela **plastocianina** (pequena proteína contendo cobre) até o **fotossistema I.**

Por ação da energia luminosa, eventos equivalentes descritos para o fotossistema II ocorrem para o fotossistema I. O elétron de alta energia é transferido para a **ferredoxina** (uma pequena proteína contendo um centro ferro-enxofre) e, finalmente, repassado para a proteína **ferredoxina NADP-redutase.** O elétron doado pelo fotossistema I é substituído pelo elétron proveniente da plastocianina (e não da excisão de H_2O como ocorre para o fotossistema II).

A proteína **ferredoxina NADP-redutase** utiliza o elétron recebido e um próton H+ para promover a redução do NADP+ em NADPH que será utilizado como **força redutora** na fixação de CO2 como mencionado à frente.

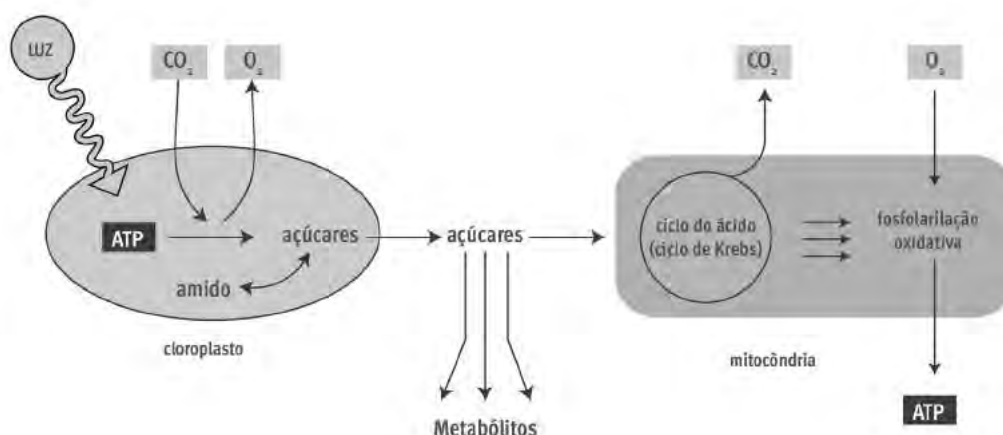
A liberação de H^+ no espaço tilacoide pela quebra da água, bem como, a atividade de bombeamento de H^+ pelo citocromo b6-f promove a formação de um **gradiente eletroquímico** de H^+ que é intensificado pela captura de H^+ no estroma pela proteína ferredoxina NADP-redutase para a redução do $NADP^+$ em **NADPH.** O gradiente eletroquímico de H+ promove a ativação da enzima **ATP** sintase, permitindo que a síntese de ATP ocorra em direção ao estroma .

Fluxo de elétrons ao longo da cadeia transportadora de elétrons na membrana tilacoide do cloroplasto. Durante a fotossíntese, a energia luminosa é capturada pelo complexo antena dos dois fotossistemas e direcionada para um par de clorofilas especiais localizados no centro de reação. Elétrons de alta energia produzidos pelo par de clorofilas são direcionados pelo centro de reação para a cadeia transportadora de elétrons. A quebra enzimática da molécula de água, o bombeamento de H+ pelo complexo citocromo b6-f em direção ao espaço tilacoide e a redução de NADP+ em NADPH em decorrência da atividade da ferredoxina NADP-redutase, promove a formação do gradiente eletroquímico de H+ que fornece energia para enzima ATPsintase funcionar.

Portanto, no estágio I da fotossíntese há produção de **ATP** e **NADPH.**

Estágio II (Independente de luz)

As moléculas de ATP e NAPH produzidas no estágio I não podem ser disponibilizadas para o citosol da célula vegetal, pois a membrana interna do cloroplasto é impermeável a estes. De modo que, ATP e NADPH serão utilizados no estroma no estágio II (também chamado de fase escura) para a fixação de carbono e, posterior, síntese de carboidratos que podem ser exportados para o citosol.

A fixação de carbono ocorre através de algumas reações químicas que juntas constituem o **ciclo de fixação do carbono (ou ciclo de Calvin).** O ciclo de Calvin tem início quando a enzima *ribulose-bifosfato-carboxilase* promove a reação do CO_2 da atmosfera com um açúcar de cinco carbonos chamado de *ribulose-1,5-bifosfato* e água produzindo duas moléculas de 3-fosfoglicerato que apresentam três carbonos cada.

DIÓXIDO DE CARBONO — RIBULOSE 1,5 – BIFOSFATO — INTERMEDIÁRIO — 2 MOLÉCULAS DE 3-FOSFOGLICERATO

Fixação de carbono. A fixação de carbono ocorre através da atividade da enzima ribulose-bifosfato-carboxilase. Há a formação de uma ligação covalente entre o CO2 e uma molécula de ribulose 1,5-bifosfato. O intermediário é hidrolisado liberando duas moléculas de 3-fosfoglicerato como produto.

A cada três moléculas de CO_2 fixadas, são produzidas seis moléculas de 3-fosfoglicerato (totalizando 18C) que sofrem reações de fosforilação e redução, regenerando ao término do ciclo, três moléculas de ribulose 1,5-bifosfato (totalizando 15C). Desta forma, uma molécula de gliceraldeído 3-P (contendo 3C) é produzida como ganho líquido.

Ciclo de fixação de carbono (ou ciclo de Calvin). O ciclo tem início com a reação do processo anterior e resulta na regeneração de 3 moléculas de ribulose 5-fosfato que tem como ganho líquido a formação de uma molécula de gliceraldeído 3-fosfato. A entrada de água no ciclo bem como os vários intermediários metabólicos, existentes entre gliceraldeído 3-fosfato e ribulose 5-fosfato, foram omitidos.

O metabolismo das moléculas de gliceraldeído 3-P pode ser direcionado de várias maneiras de acordo com as necessidades do vegetal. O gliceraldeído 3-P, que permanece no estroma, é utilizado para a síntese de amido que é um polissacarídeo de reserva formado por glicoses. À noite, o amido estocado em grânulos no estroma pode ser degradado liberando moléculas de glicose que contribuem para suprir as necessidades energéticas celulares. Além disto, o gliceraldeído 3-P pode ser exportado para o citosol onde uma parte é consumida pela via glicolítica que apresenta como produto final moléculas de piruvato. O piruvato pode ser direcionado à mitocôndria onde é convertido ao acetil-CoA que será catabolizado pelo ciclo de ácido cítrico contribuindo para a produção de ATP pela fosforilação oxidativa (para detalhes, consultar o texto sobre mitocôndria). As moléculas de glicerol 3-P exportadas para o citoplasma podem também ser direcionadas para a produção de sacarose que é o principal carboidrato transportado pelos feixes vasculares para os tecidos vegetais.

Cloroplastos e mitocôndrias colaboram para suprir as necessidades metabólicas e energéticas das células. As moléculas de ATP e de NADPH produzidas durante a fase da fotossíntese dependente de luz são utilizadas para a fixação de carbono. Os açúcares resultantes podem ser armazenados no cloroplasto ou direcionados para o citosol onde são destinados à produção de ATP nas mitocôndrias ou exportados para o restante dos tecidos vegetais.

Peroxissomos

São organelas presentes em todas as células. Assim como os lisossomos, os peroxissomos são delimitados por apenas uma membrana.

? CURIOSIDADE

Ainda não está definido se novos peroxissomos se replicam de maneira autônoma a partir de peroxissomos preexistentes ou se são formados a partir do retículo endoplasmático.

O interior dos peroxissomos é repleto de enzimas envolvidas na oxidação de ácidos graxos, aminoácidos, purinas, ácido úrico, entre outros. Se por um lado, a oxidação na mitocôndria tem como objetivo a produção de ATP, a oxidação nos peroxissomos produz principalmente energia térmica.

ATENÇÃO

As reações de oxidação nos peroxissomos, frequentemente, produzem produtos tóxicos como o **peróxido de hidrogênio.** Os peroxissomos recebem este nome devido à presença da enzima **catalase** que é capaz de decompor o **peróxido de hidrogênio (H_2O_2)** em **H_2O** e **O_2**.

Em organelas como mitocôndria, retículo endoplasmático e também no citosol, as reações de oxidação podem produzir **ânions superóxidos** (O_2^-) que são extremamente reativos. Alguns trabalhos sugerem que estas espécies ativas de oxigênio podem interagir com DNA, membranas lipídicas e proteínas contribuindo para o surgimento de mutações no material genético e envelhecimento celular. A enzima **superóxido dismutase** converte os ânions superóxidos em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio molecular O_2. Assim o H_2O_2 é, então, degradado nos peroxissomos pela ação da catalase.

Transporte de Proteínas

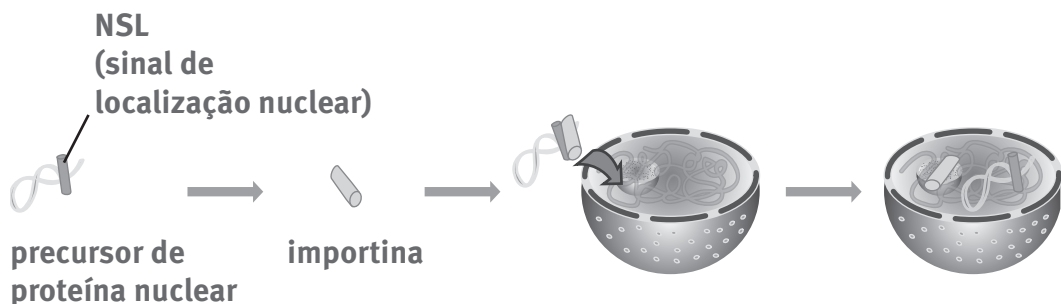
Uma questão intrigante está relacionada com a síntese proteica. Como mencionado anteriormente, a síntese proteica ocorre pela atividade dos ribossomos, que são encontrados livres no citosol, associados à membrana do retículo endoplasmático e nas mitocôndrias.

REFLEXÃO

Como ocorre a incorporação de proteínas nas organelas celulares?
Como é possível que uma proteína produzida no citoplasma tenha como destino final o núcleo da célula, lisossomo ou algum outro local?
Quais são os eventos envolvidos nesse direcionamento?

Para entender estas e outras questões é preciso perceber que os **ribossomos livres** no citosol sintetizam **proteínas** destinadas inicialmente para o próprio **citosol** e que as proteínas produzidas por **ribossomos** associados ao **retículo endoplasmático** podem ser direcionadas para secreção, membrana plasmática ou para alguma organela. Para uma proteína seguir para uma organela é necessário que ela tenha uma **sequência-sinal** (pequena sequência de aminoácidos) que permite a proteína ser reconhecida pela maquinaria enzimática e, consequentemente, ser endereçada para a organela correta. A tabela a seguir mostra algumas sequências-sinal típicas.

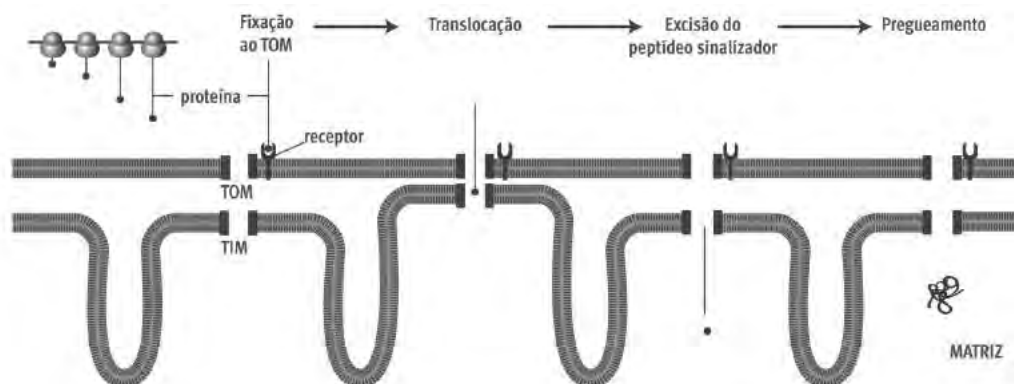
SEQUÊNCIAS-SINAL TÍPICAS	
FUNÇÃO DO SINAL	**EXEMPLO DE SEQUÊNCIA-SINAL**
IMPORTAÇÃO PARA O R.E.	^+H_3N–Met–Met–Ser–Phe–Val–Ser–Leu–Leu–Leu–Val–Gly–Ile–Leu–Phe–Trp–Ala–Thr–**Glu**–Ala–**Glu**–Gln–Leu–Thr–Lys–Cys–**Glu**–Val–Phe–Gln–

RETENÇÃO NO LÚMEN DO R.E.	–Lys–**Asp**–**Glu**–Leu–COO⁻
IMPORTAÇÃO PARA MITOCÔNDRIA	$^{+}H_3N$–Met–Leu–Ser–Leu–Arg–Gln–Ser–Ile–Arg–Phe–Phe–Lys–Pro–Ala–Thr–Arg–Thr–Leu–Cys–Ser–Ser–Arg–Tyr–Leu–Leu–
IMPORTAÇÃO PARA NÚCLEO	–Pro–Pro–Lys–Lys–Lys–Arg–Lys–Val–
IMPORTAÇÃO PARA PEROXISOMOS	–Ser–Lys–Leu–

- Aminoácidos carregados positivamente são sublinhados.
- Aminoácidos carregados negativamente são mostrados em **negrito**.
- Uma sequência de aminoácidos hidrofóbicos é mostrada em caixas.
- +H3n indica a extremidade n-terminal da proteína; coo- indica a extremidade c-terminal.
- O sinal de retenção no lúmen do r.E. É frequentemente representado pelo código de uma letra dos aminoácidos, KDEL.

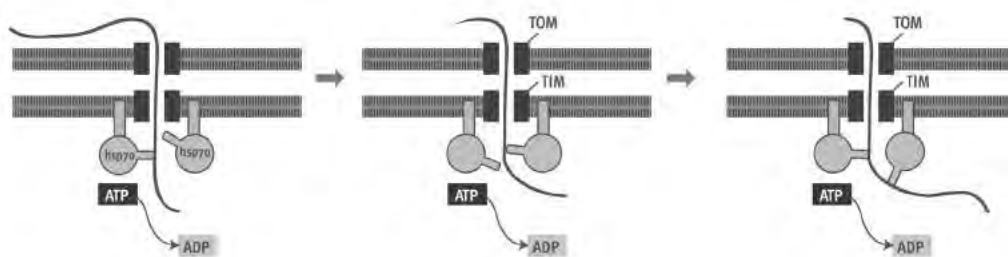
A seguir abordaremos, de forma mais específica, o transporte de proteínas para os diferentes compartimentos celulares.

Transporte de proteínas para o núcleo

O envelope nuclear possui poros (para mais detalhes, consultar capítulo 4) que permitem o transporte de várias moléculas incluindo proteínas produzidas por ribossomos livres no citosol em direção ao núcleo. No entanto, para que isto ocorra é necessário que a proteína tenha uma **sequência-sinal específica** de **endereçamento** para o **núcleo** chamado NSL (do inglês, *nuclear signal localization*).

A sequência-sinal NSL é reconhecida pela proteína **importina** que interage com a estrutura do poro facilitando o transporte da proteína para o interior do núcleo.

Transporte de proteínas citoplasmáticas para o núcleo celular.

No núcleo, o complexo proteína/importina se dissocia. A proteína transportada permanece no núcleo onde irá desempenhar a sua função enquanto a importina retorna ao citoplasma para reiniciar um novo processo de transporte proteico. A tabela anterior mostra a sequência-sinal NSL que corresponde a uma pequena sequência contendo várias lisinas ou argininas que apresentam carga positiva.

Transporte de proteínas para a mitocôndria

Apesar de a mitocôndria apresentar ribossomos próprios e, desta forma, ser capaz de executar síntese proteica, a maior parte de suas proteínas são codificadas por genes nucleares, sintetizadas no citosol e importadas pela própria mitocôndria.

As proteínas destinadas à mitocôndria possuem na extremidade **amino-terminal** (N-terminal) uma **sequência-sinal** (vide tabela anterior) reconhecida por um **receptor** presente na membrana externa.

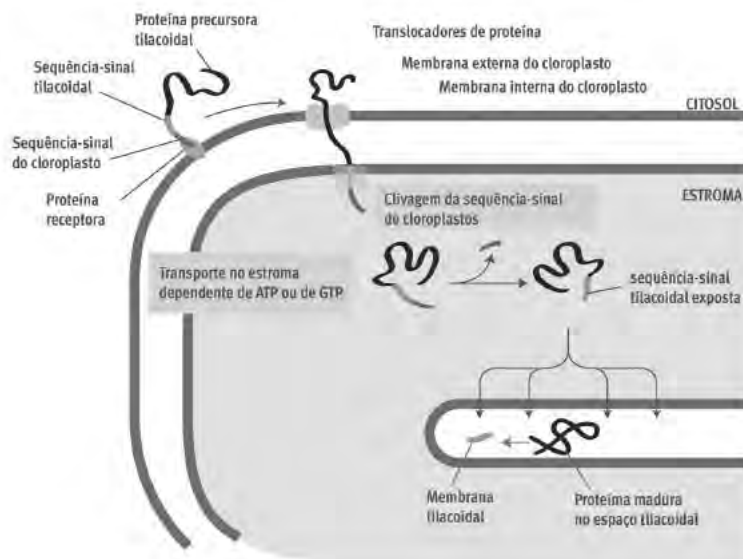
Transporte de proteínas citoplasmáticas para a matriz mitocondrial.

Para entrarem na mitocôndria, as proteínas se desenovelam com o auxílio de proteínas chaperonas e atravessam dois complexos de translocases, o primeiro chamado TOM (do inglês, *translocase of the outer mitochondrial membrane*) localizado na membrana externa e o segundo chamado TIM (do inglês, *translocase of the inner mitochondrial membrane*) na membrana interna.

Transporte de proteínas citoplasmáticas para a matriz mitocondrial através dos complexos translocases TOM e TIM. A proteína citoplasmática é desenovelada com auxílio de chaperonas (não mostradas na figura) para penetrar nos complexos TOM e TIM. Na matriz mitocondrial, a proteína assume a conformação adequada. Chaperonas da família hs70 podem auxiliar este processo.

Na matriz mitocondrial, a enzima peptidase sinal remove a sequência-sinal da proteína, ao mesmo tempo, que a proteína restaura a sua estrutura com ou sem o auxílio de novas **chaperonas.**

Por fim, as proteínas mitocondriais que têm como destino a membrana externa ou interna apresentam sinais adicionais capazes de direcioná-las para a membrana correspondente.

Transporte de proteínas para o cloroplasto

! ATENÇÃO

Apesar de os cloroplastos apresentarem DNA próprio e produzirem uma parte de suas proteínas, a maioria das proteínas dos cloroplastos é codificada por genes nucleares e, portanto, são importadas do citoplasma.

O transporte de proteínas para o cloroplasto ocorre de modo semelhante ao descrito para a mitocôndria.

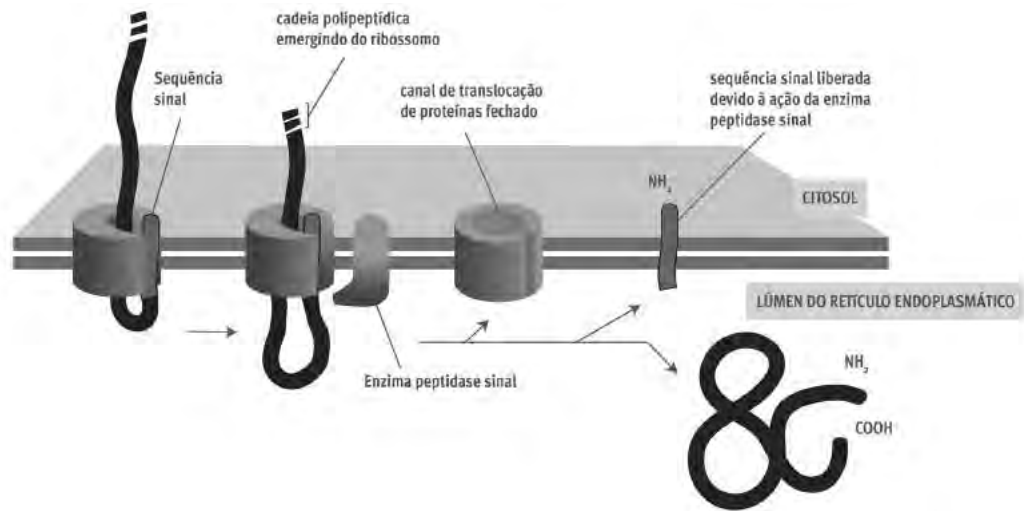
Proteínas destinadas aos cloroplastos normalmente apresentam uma sequência-sinal na região N-terminal. Translocadores auxiliam o transporte da proteína através das duas membranas do cloroplasto. O transporte é executado com as proteínas desenoveladas. No estroma, a peptidase sinal remove a sequência sinal ao mesmo tempo em que proteínas chaperonas restauram a conformação original das proteínas transportadas. Proteínas direcionadas ao espaço tilacoide apresentam uma sequência sinal tilacoidal hidrofóbica logo após a sequência-sinal N-terminal do cloroplasto.

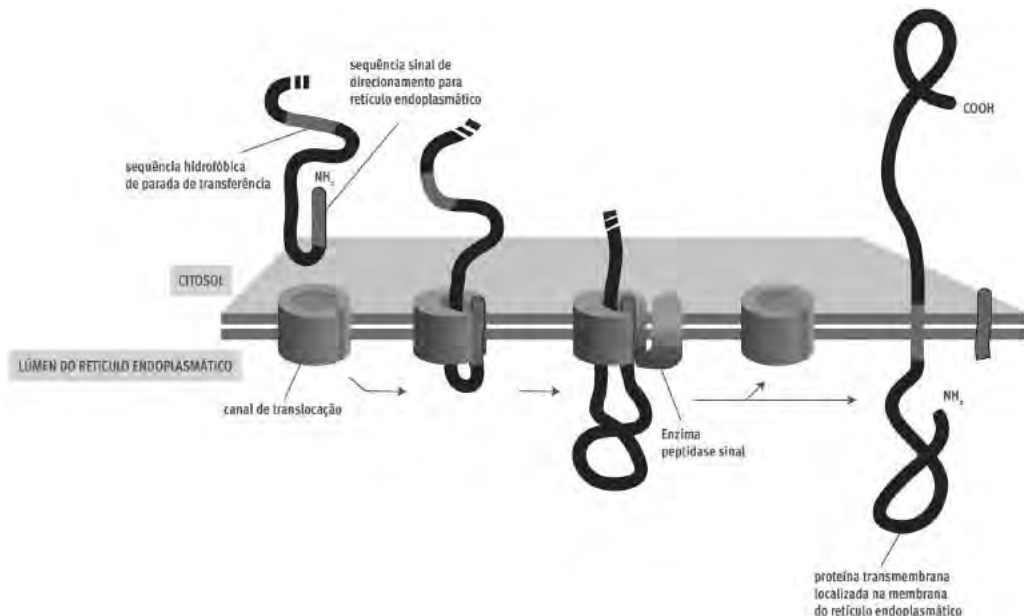
Transporte de proteínas citoplasmáticas para o cloroplasto

Transporte de proteínas para o peroxissomo

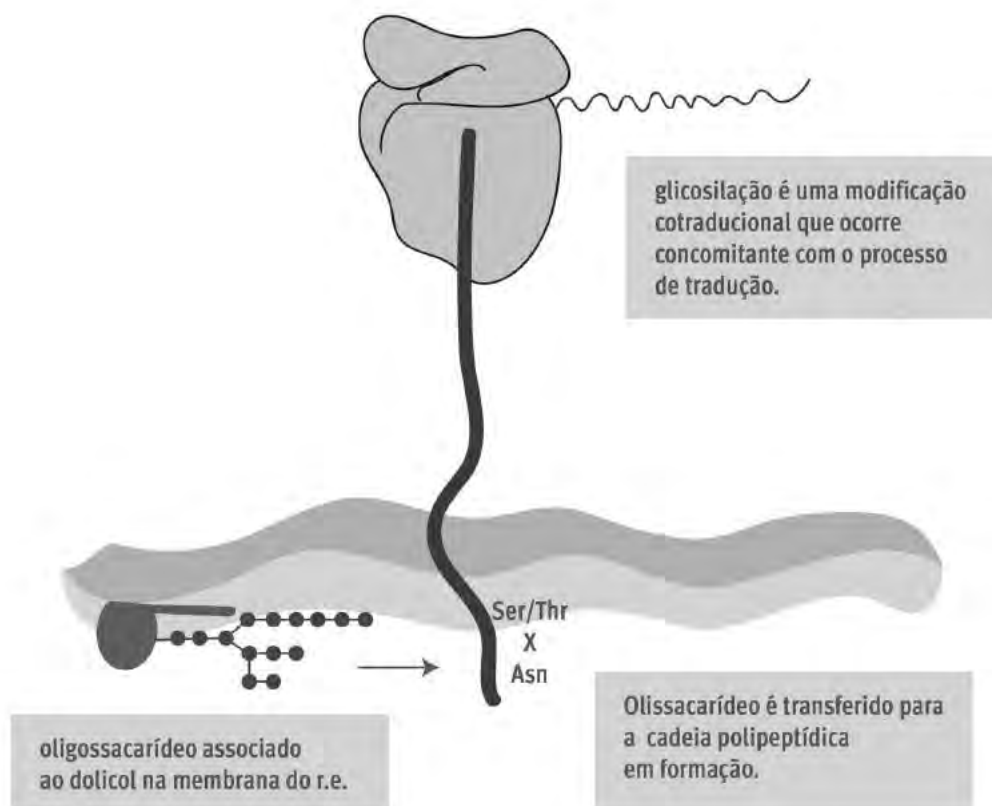
Os peroxissomos possuem várias enzimas em seu interior que são oriundas do citosol. Proteínas do peroxissomo possuem na extremidade carboxi-terminal (C-terminal) uma sequência-sinal composta por três aminoácidos: serina, lisina e leucina (vide tabela anterior). A sequência-sinal é reconhecida por um receptor presente no citoplasma que, por sua vez, se associa a uma proteína específica da membrana envolvida no transporte.

Transporte de proteínas citoplasmáticas para o peroxissomo

Síntese de proteínas no Retículo Endoplasmático Rugoso (ou granular)

Para entender como ocorre a ligação de ribossomos ao retículo endoplasmático, deve-se lembrar de que proteínas destinadas ao retículo endoplasmático possuem **sequência-sinal** composta por **oito ou mais aminoácidos hidrofóbicos** localizados na extremidade N-terminal (vide tabela anterior).

A sequência-sinal é reconhecida por uma estrutura citoplasmática formada por proteína e RNA chamada de **partículas de reconhecimento de sinal** (**SRP**, do inglês *signal recognition particles*). Na membrana do retículo endoplasmático existe o **receptor da SRP.** Quando a SRP interage com o seu receptor, ocorre a aproximação entre o ribossomo e a membrana do retículo. Neste momento, o ribossomo se liga à membrana e continua a síntese da proteína. A sequência-sinal hidrofóbica da proteína nascente permanece associada à membrana lipídica do retículo enquanto a proteína atravessa o **canal de translocação** em direção ao lúmen.

Síntese de proteínas no retículo endoplasmático. Proteínas de retículo apresentam sequência-sinal que é reconhecida pela SRP. A associação SRP/receptor da SRP aproxima o ribossomo da membrana do retículo. O ribossomo permanece ligado à membrana até o término da síntese proteica.

Durante este processo, a enzima **peptidase sinal** cliva a sequência-sinal da proteína. A sequência-sinal é rapidamente degradada e a proteína liberada no interior do retículo.

Síntese de proteínas solúveis do retículo endoplasmático. A sequência sinal é clivada através da atividade da enzima peptidase sinal e a proteína solúvel é liberada no lúmen do retículo.

Proteínas destinadas à membrana do retículo apresentam, além da sequência-sinal, uma sequência adicional de aminoácidos hidrofóbicos que constitui a **sequência de parada de transferência.** Após a ação da peptidase sinal, a proteína permanece ligada à membrana através da sequência de parada de transferência.

Síntese de proteínas da membrana do retículo endoplasmático. Proteínas da membrana do retículo apresentam sequência-sinal e *sequência de parada de transferência.*

O ribossomo permanece ligado ao retículo até o término da síntese proteica.

Além da síntese proteica, no retículo ocorrem eventos como a **glicosilação** (adição de carboidratos) de proteínas. Proteínas são glicosiladas quando apresentam as sequências de aminoácidos Asn – X – Ser e Asn - X – Thr, na qual, Asn representa o aminoácido asparagina, X corresponde a qualquer aminoácido, Ser corresponde à serina e Thr representa o aminoácido treonina. A cadeia de açúcar é transferida do lipídio de membrana chamado dolicol para o grupamento amina da arginina em um processo conhecido como **N-glicosilação.**

Processo de glicosilação de proteínas no retículo endoplasmático.

Uma parte das proteínas sintetizadas permanece no retículo endoplasmático executando as suas funções. No entanto, a maior parte das proteínas reticulares é direcionada para o complexo de Golgi, via **vesículas transportadoras** que se destacam do retículo endoplasmático.

Processamento de proteínas no complexo de Golgi

O complexo de Golgi (CG) é um centro de processamento de macromoléculas. Como mencionado anteriormente, no CG ocorrem eventos de proteólise, sulfatação, fosforilação e glicosilação. Proteínas que apresentem a sequência Asn – X – Ser (ou Thr) terão adicionados carboidratos no grupamento hidroxila (OH) dos aminoácidos serina ou treonina, em um evento chamado de **O-glicosilação.**

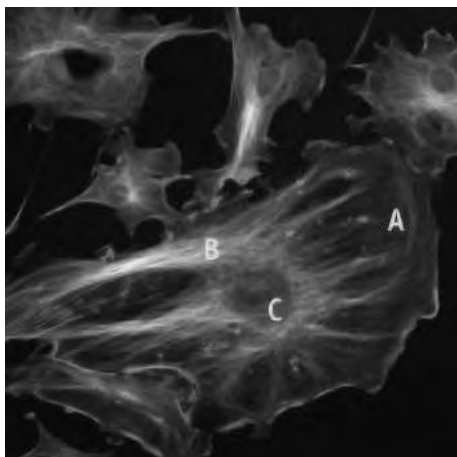
As proteínas modificadas poderão permanecer no CG para catalisar as suas funções, no entanto, a maioria das proteínas segue, via vesículas transportadoras, em direção à mem-

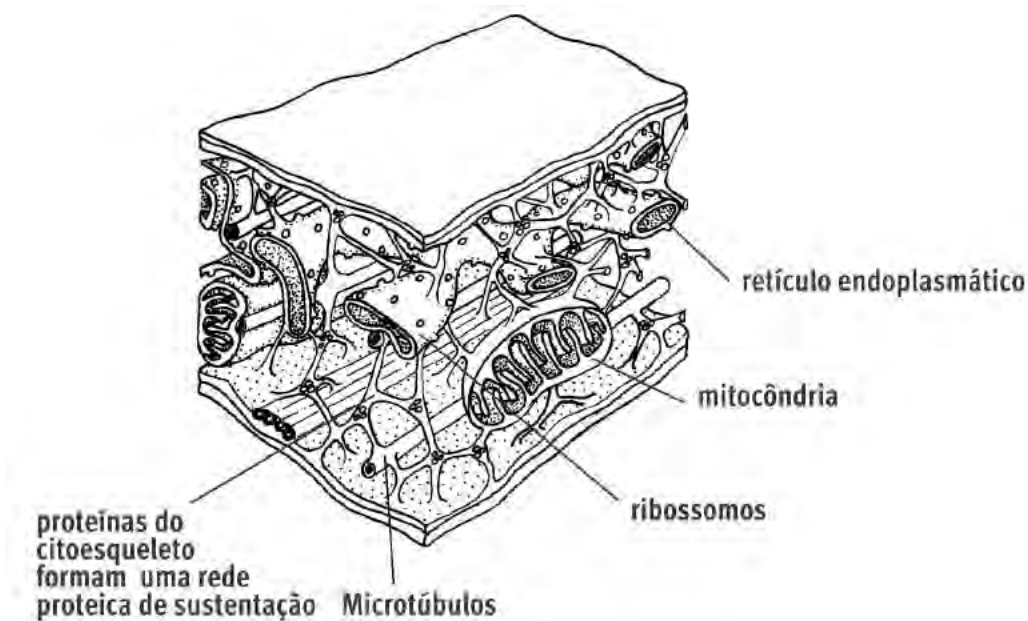
brana celular para serem secretadas (ou permanecerem ligadas à membrana) ou são direcionadas para o lisossomo.

As proteínas que destinadas aos lisossomos recebem fosforilação no açúcar manose, produzindo manose-6-fosfato que constitui uma marcação para proteínas lisossomais.

Transporte de proteínas para o lisossomo

Proteínas marcadas com manose-6-fosfato chegam ao lisossomo a partir do complexo de Golgi. Devido ao pH ácido dos lisossomos, o grupamento fosfato da manose – 6 –fosfato é removido e, então, as proteínas tornam-se enzimas ativas participando do processo de digestão do material endocitado ou na reciclagem de nutrientes.

Citoesqueleto celular

REFLEXÃO

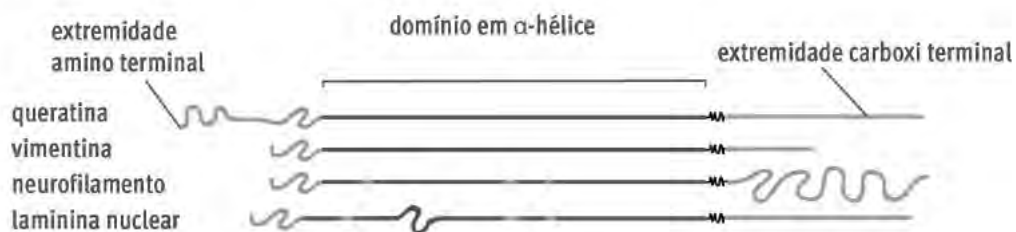
Comparando uma hemácia, neurônio e uma fibra muscular percebe-se a complexidade de formas distintas presentes em diversos tipos celulares.

Essas diferenças morfológicas são possíveis graças à presença do citoesqueleto celular.

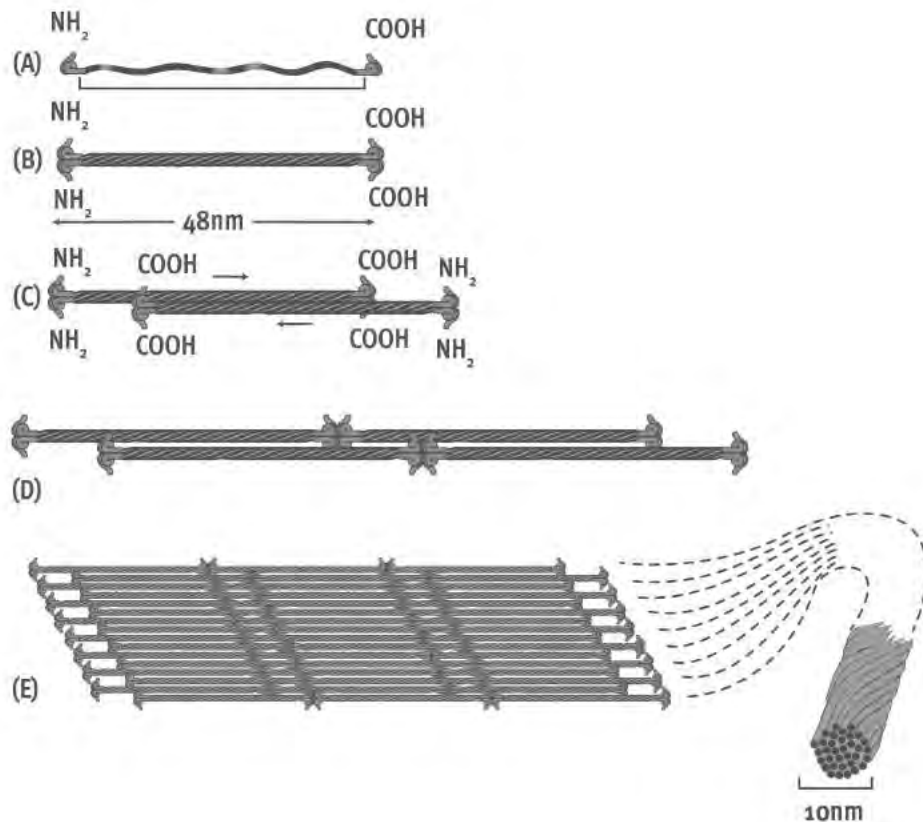
O citoesqueleto forma uma rede tridimensional de proteínas que se estende por todo o citoplasma de células eucarióticas.

Diferentemente do esqueleto ósseo, o citoesqueleto é uma estrutura altamente dinâmica que, além de contribuir para a manutenção da forma das células, é o responsável por uma série de eventos celulares. O citoesqueleto confere resistência à célula. O arcabouço proteico sustenta a membrana celular evitando que ocorra lise em células submetidas a estresse, tensão e esforço.

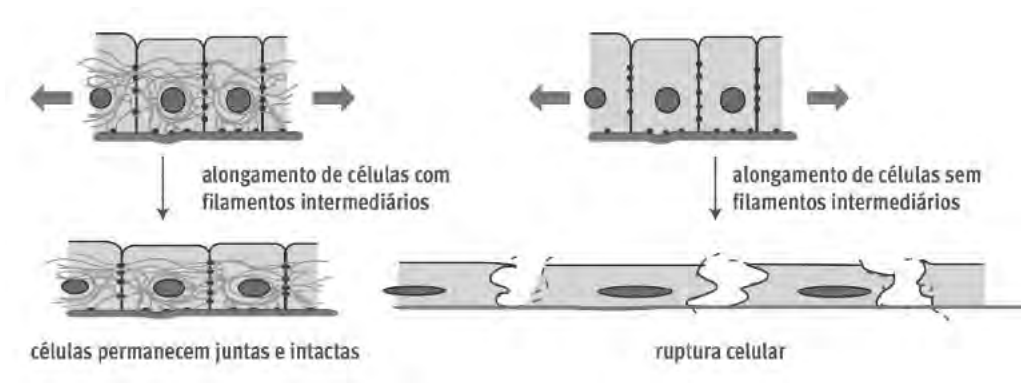
Citoesqueleto distribuído por todo o citoplasma celular conferindo forma à célula. Célula animal marcada para evidenciar microtúbulos (B) e filamentos de actina (A). O DNA nuclear está marcado em “C”.

Esta estrutura proteica também é responsável por movimentos celulares, posicionamento e transporte de organelas, transporte interno de materiais, batimento de cílios e flagelos, migração dos cromossomos, separação das células em divisão e contração muscular.

O citoesqueleto é formado por três tipos de filamentos proteicos: filamentos intermediários, filamentos de actina e os microtúbulos. Cada um destes filamentos apresentam estruturas próprias, são formados por unidades básicas específicas e possuem distribuição intracelular e funções diferenciadas.

Filamentos intermediários

? CURIOSIDADE

Os filamentos intermediários recebem este nome por apresentarem diâmetro intermediário (10nm) quando comparados com os microtúbulos (24nm de diâmetro) e os filamentos de actina (7nm).

Os filamentos intermediários são formados por monômeros lineares que apresentam uma porção central em α-hélice e extremidades amino-terminal e carboxi-terminal globulares que são específicas para cada tipo de filamento intermediário.

Diversidade de monômeros. Diferentes monômeros originam filamentos intermediários específicos. Note a região central em α-hélice comum aos monômeros e as extremidades amino-terminal e carboxi-terminal específicas para cada monômero.

Dois monômeros interagem e se entrelaçam através das regiões em α-hélice formando um dímero. Dois dímeros se associam através de ligações não covalentes formando um tetrâmero com uma organização antiparalela. Os tetrâmeros unem-se por ligações não covalentes através de suas extremidades originando protofilamentos. Os filamentos intermediários são constituídos por oito protofilamentos fortemente entrelaçados semelhante a um cabo.

Formação dos filamentos intermediários:

(A) Monômero

(B) Dois monômeros se entrelaçam através das regiões em α-hélice formando dímero.

(C) Dois dímeros se associam formando um tetrâmero.

(D) Tetrâmeros se associam originando protofilamentos.

(E) Filamentos intermediários são constituído por 8 protofilamentos.

Os filamentos intermediários são particularmente importantes nas células submetidas a estresses mecânicos como nas células musculares e nos delgados prolongamentos dos axônios neuronais. Os filamentos intermediários são tensionados de modo a limitar a deformação celular e, desta forma, preservar a integridade da célula quando as células epiteliais são submetidas a uma força de deformação. Em células que não apresentam estes filamentos, a força de estiramento poderia levar a um rompimento da membrana celular e, consequentemente, a morte da célula.

Filamentos intermediários fornecem resistência às tensões. Células contendo filamentos intermediários associados com as junções desmossomais (vista no capítulo 3) são mais resistentes às tensões. Na ausência desses filamentos, a tensão aplicada poderia promover deformações celulares acentuadas que poderiam estourar a célula.

Tipos de filamentos intermediários

Existem quatro classes de filamentos intermediários que diferem na composição, localização e função.

PRINCIPAIS TIPOS DE FILAMENTOS INTERMEDIÁRIOS				
TIPOS DE FILAMENTOS INTERMEDIÁRIOS	Queratinas	Vimentina e relacionados à vimentina	Neurofilamentos	Lâminas nucleares
LOCALIZAÇÃO	Epitélios	Tecido conectivo, células musculares e células da neuróglia	Neurônios	Em todas as células animais

As queratinas formam a classe mais diversificada. Existem dois tipos de monômeros de queratina; monômeros de queratina ácida (tipo I) e monômeros de queratina básica (tipo II) que formam os **heterodímeros.** Desta forma, os filamentos de queratina são formados por tetrâmeros que apresentam proporção equitativa de queratina tipo I e II. Os filamentos de queratina podem se unir formando estruturas rígidas como escamas, garras, unhas e cabelos.

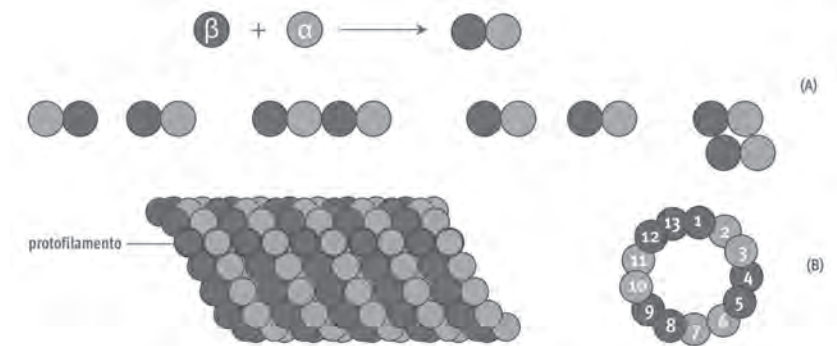
Os filamentos de queratina são os filamentos intermediários presentes nos desmossomos e nos hemidesmossomos (capítulo 3) fornecendo resistência mecânica em células epiteliais.

? CURIOSIDADE

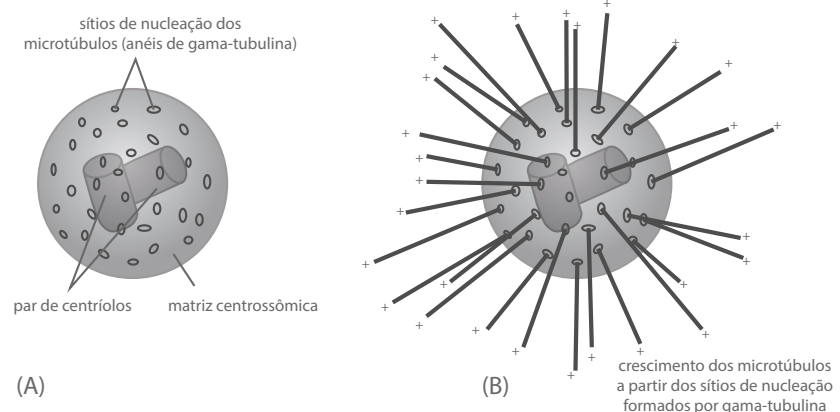
Epidermólise Bolhosa

Mutações em genes para queratina resultam no surgimento da doença *epidermólise bolhosa,* sendo caracterizada pelo aparecimento de bolhas na pele em decorrência da lise (rompimento) das células superficiais da

CONCEITO

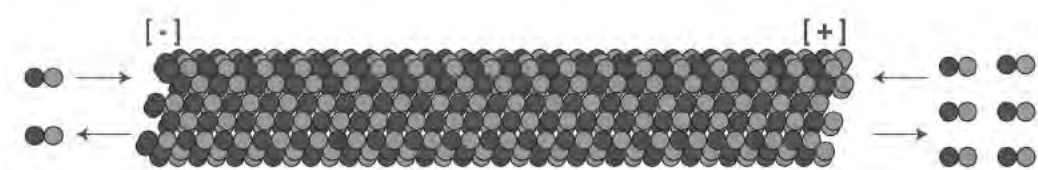
Microtúbulos

Os microtúbulos são caracterizados por formarem longas estruturas ocas em forma de tubo, desempenhando função importante na organização celular em eucariotos.

epiderme. E expressão de queratinas defeituosas afeta a formação dos filamentos de queratina tornando as células epiteliais susceptíveis ao mais leve estresse mecânico.

Os neurofilamentos são encontrados nos neurônios, principalmente nos axônios. A vimentina e filamentos semelhantes à vimentina, como a desmina, constituem a classe de filamentos intermediários mais amplamente distribuída. A desmina é comumente encontrada em células musculares esqueléticas, lisas e cardíacas. A lâmina nuclear é encontrada nas células eucariotas revestindo o núcleo, contribuindo para a manutenção da forma e a resistência do envelope nuclear.

Microtúbulos

Os ***microtúbulos*** são constituídos por uma unidade básica chamada tubulina. A tubulina é um heterodímero formado pelas proteínas globulares α-tubulina e β-tubulina (A) que se encontram unidas por ligações não covalentes dando origem a estruturas chamadas de protofilamentos. Os microtúbulos são formados por treze protofilamentos. (B)

Estrutura dos microtúbulos. Heterodímeros de tubulina formada pelos monômeros α e β (A). Os dímeros de tubulina se associam e estruturam um protofilamento. Os microtúbulos são constituídos por treze protofilamentos (B).

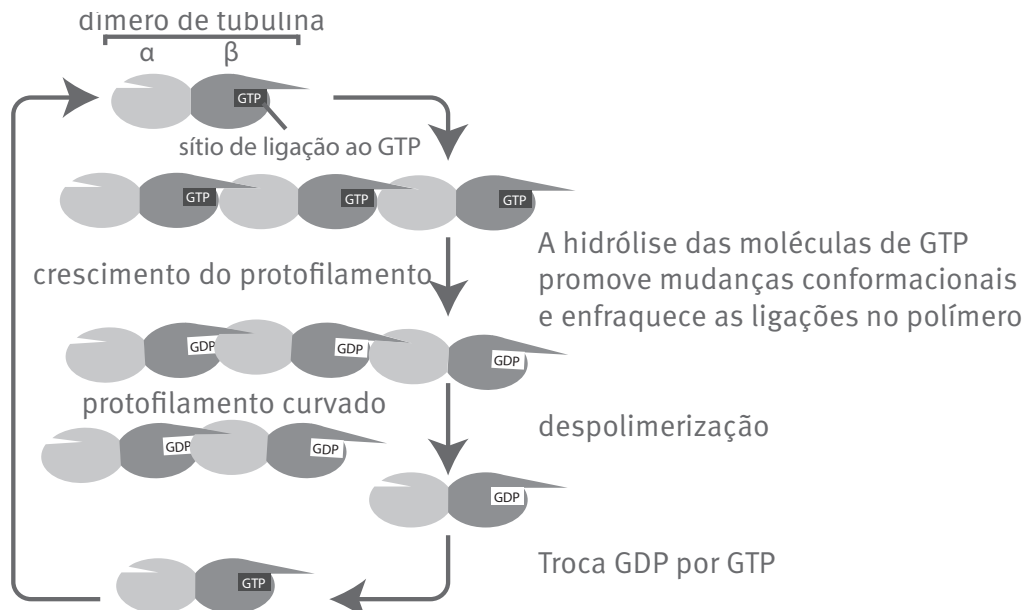
Os microtúbulos citoplasmáticos têm origem a partir do centrossomo que é uma estrutura formada por um par de centríolos mergulhados em uma matriz amorfa chamada de **matriz centrossômica.**

Formação de microtúbulos citoplasmáticos a partir do centrossomo. Par de centríolos mergulhados na matriz centrossômica contendo vários sítios de nucleação formados por anéis de γ-tubulina (A). Crescimento dos microtúbulos a partir dos anéis de γ-tubulina em direção citoplasma (B).

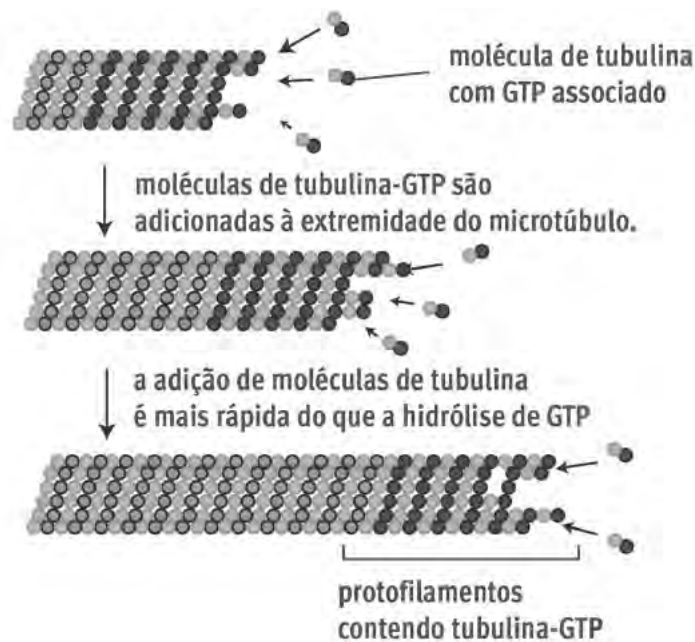
Na matriz centrossômica é encontrada outro tipo de tubulina chamada de γ-tubulina. A união das γ-tubulina permite a construção de uma estrutura em forma de anel que constitui o *sítio de nucleação* para o crescimento do microtúbulo.

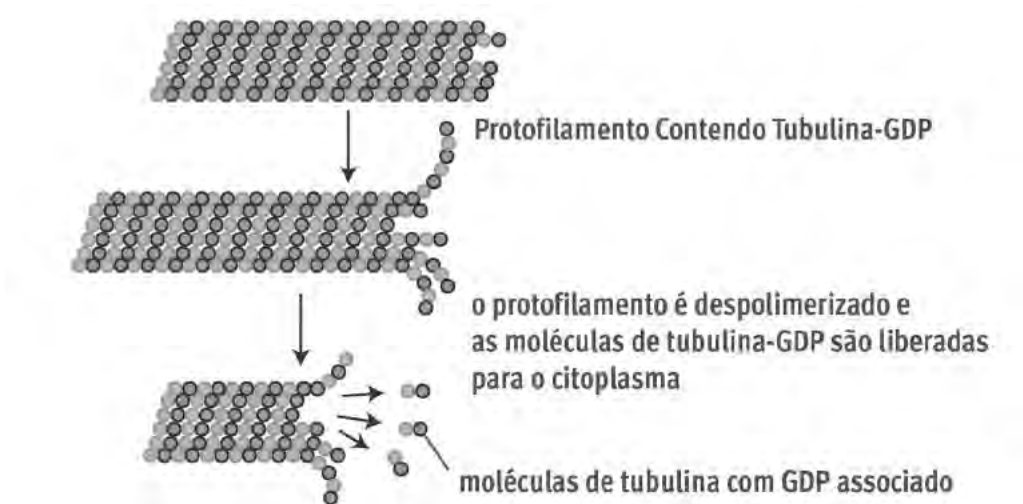
O anel formado por γ-tubulinas é o sítio de nucleação para a construção de novos microtúbulos .

É a partir do anel de γ-tubulinas que heterodímeros de tubulina α-β são adicionados e um novo microtúbulo é montado. Parece haver uma orientação para a incorporação de novos heterodímeros de tubulinas α-β. O monômero β-tubulina assume uma posição oposta ao centrossomo. Desta forma, a extremidade do protofilamento próxima ao centrossomo (e, consequentemente, junto ao anel de γ-tubulinas) é iniciada por tubulina α e foi denominada *extremidade menos* (–) e a extremidade oposta encerrada por tubulina β foi chamada de *extremidade mais* (+).

Na extremidade (–) a incorporação e remoção de tubulinas é lenta, diferentemente da extremidade (+) que ocorre de modo mais intenso.

Essa **polaridade** é comum a todos os protofilamentos que compõe a estrutura dos microtúbulos.

? CURIOSIDADE

Observando soluções *in vitro,* contendo altas concentrações de tubulina, a incorporação de novos dímeros de tubulina ocorreu mais rapidamente na *extremidade mais* (+) do que na *extremidade menos* (–) dos microtúbulos; é por esse motivo, que tais extremidades foram assim batizadas. Essa característica permite que o microtúbulo tenha um maior prolongamento em direção ao citoplasma, facilitando a interação com estruturas e organelas celulares.

Montagem dos microtúbulos

Ao longo do ciclo celular, rotineiramente, novos microtúbulos são construídos e outros são desfeitos. Como ocorre essa **instabilidade dinâmica?** Para entender essa regulação deve-se notar que o monômero de tubulina β possui um sítio de ligação ao GTP.

Montagem dos microtúbulos. Heterodímeros de tubulina contendo GTP possuem maior afinidade com outros heterodímeros, permitindo a polimerização do microtúbulo. Quando há a hidrólise de GTP em GDP, a afinidade entre os heterodímeros diminui promovendo a despolimerização do microtúbulo. Note que quando GDP é convertido novamente em GTP, o processo é reiniciado.

Os dímeros de tubulina associados ao GTP apresentam maior afinidade de ligação entre si, contribuem para a polimerização dos protofilamentos de tubulina e, consequentemente, para o aumento da extensão dos microtúbulos. Note que a incorporação de tubulina-GTP promove a formação de um **quepe de GTP** na *extremidade mais* (+) do microtúbulo em crescimento.

Polimerização dos microtúbulos. A adição de heterodímeros de tubulina-GTP promove a formação do quepe de GTP permitindo o crescimento do microtúbulo.

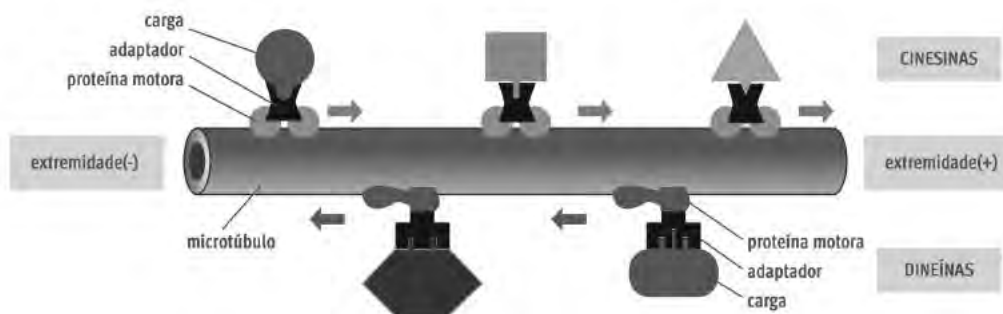
Após a incorporação de tubulinas ao microtúbulo, o GTP pode ser hidrolisado em GDP, originando tubulinas-GDP. Desta forma, o **quepe de GTP** será mantido apenas enquanto houver contínua adição de novas tubulinas-GTP, quando isto deixa de ocorrer, GTP é hidrolisado em GDP. Os dímeros de tubulina agora com GDP perdem afinidade entre si, ocasionando uma despolimerização dos protofilamentos permitindo a diminuição do tamanho do microtúbulo.

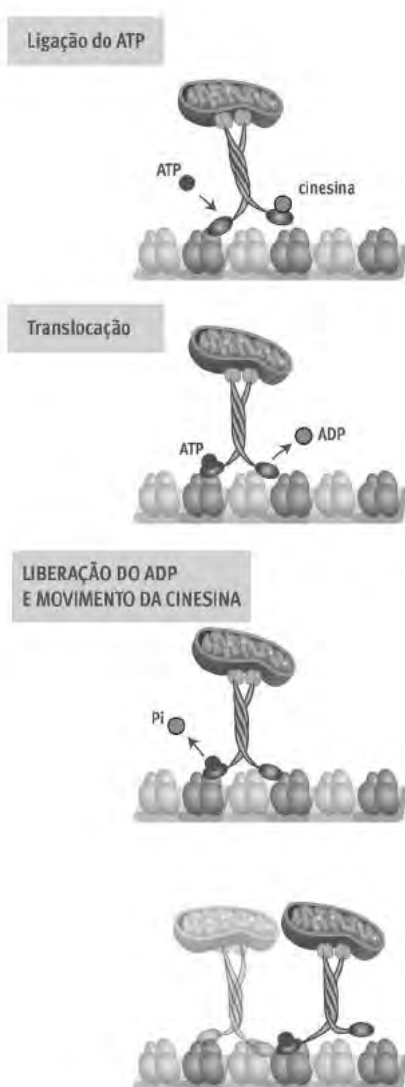
Despolimerização dos microtúbulos

Após a hidrólise de GTP em GDP, os heterodímeros de tubulina perdem afinidade e o microtúbulo é despolimerizado.

ATENÇÃO

Portanto, o balanço intracelular existente entre tubulinas GTP / tubulina GDP determina o alongamento ou encurtamento dos microtúbulos celulares.

Quando microtúbulos crescentes encontram estruturas celulares podem se associar a estas e terem o tamanho estabilizado devido à ligação de proteínas regulatórias. Microtúbulos estáveis contribuem para uma maior organização citoplasmática, movimentos celulares e ao transporte de macromoléculas e organelas.

Proteínas motoras dos microtúbulos

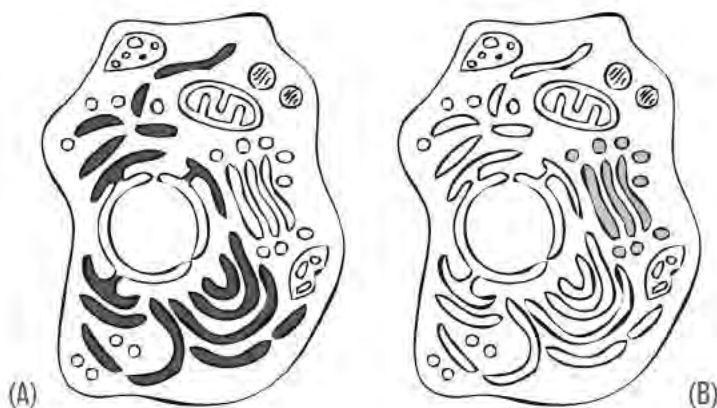
No interior da célula há um intenso transporte de vesículas e organelas. Alguns desses movimentos ocorrem ao longo dos microtúbulos e são catalisados por **proteínas motoras.** Existem duas famílias de proteínas motoras associadas aos microtúbulos:

CINESINAS	DINEÍNAS

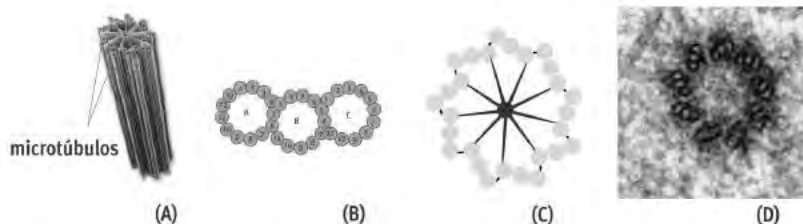
A família das cinesinas é constituída por proteínas que promovem transporte ao longo da *extremidade menos* (–) em direção à *extremidade mais* (+). A família das dineínas é formada por proteínas que executam transporte no sentido contrário, ou seja, da *extremidade mais* (+) para a *extremidade menos* (–).

Proteínas motoras associadas aos microtúbulos. A proteína motora cinesina executa transporte de macromoléculas e organelas a partir da extremidade (-) em direção à extremidade (+). A proteína motora cinesina transporta no sentido contrário, ou seja, da extremidade (+) para a (-).

Essas proteínas motoras apresentam regiões estruturais bem definidas. Possuem duas cabeças globulares em uma extremidade que se associam aos microtúbulos e uma longa cauda na outra extremidade que se liga às vesículas, organelas ou outra estrutura celular. Os domínios globulares possuem atividade ATPase. A hidrólise de ATP promove mudanças conformacionais na proteína que permitem o transporte ao longo dos microtúbulos.

Transporte ao longo dos microtúbulos. A figura ilustra a ação da proteína motora cinesina transportando uma organela através do microtúbulo. Note o consumo de ATP para realização do trabalho.

EXEMPLO

O retículo endoplasmático apresenta uma localização mais dispersa na célula, tendo início a partir da continuidade com o envelope nuclear, podendo se estender até as proximidades da membrana plasmática. Na membrana do retículo há presença de cinesinas que se associam com os microtúbulos promovendo esse padrão de posicionamento. No entanto, na membrana do complexo de Golgi encontram-se dineínas que se associam com microtúbulos e contribuem para uma localização mais próxima ao núcleo.

Padrão de distribuição do Retículo Endoplasmático e do Complexo de Golgi no citoplasma celular. Na membrana do retículo endoplasmático há cinesinas que promovem deslocamento dessa organela em direção à extremidade (+) dos microtúbulos, contribuindo para uma maior dispersão dessa organela no citoplasma celular (A). Contudo, dineínas estão presentes na membrana do complexo de Golgi, permitindo que esta organela tenha uma distribuição mais localizada, próxima da extremidade (-) dos microtúbulos.

CURIOSIDADE

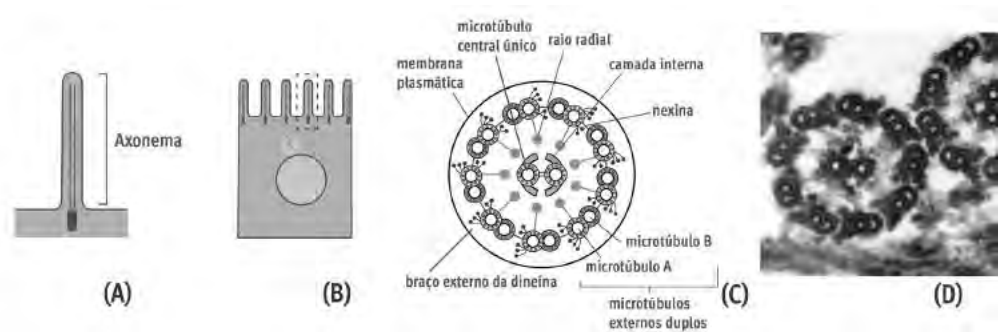
Microtúbulos

Drogas que interferem na dinâmica da montagem e desmontagem dos microtúbulos perturbam o ciclo de divisão celular. Esta característica é bastante interessante quando se considera as células tumorais apresentando intensa taxa de divisão. Drogas como colchicina, colcemida, vincristina e vimblastina se associam às tubulinas livres no citoplasma celular, comprometendo a incorporação das mesmas aos microtúbulos e, desta forma, dificultando a polimerização dos microtúbulos. Em contrapartida, o taxol é uma droga que interage com os microtúbulos estabilizando-os, dificultando a saída de tubulinas, consequentemente, a despolimerização dos microtúbulos.

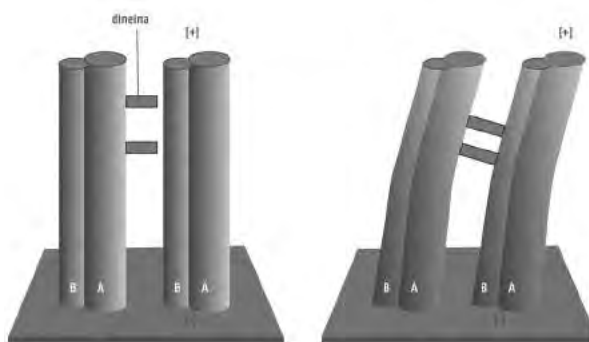
Outros tipos de microtúbulos

Microtúbulos do fuso mitótico, cílios e flagelos

Durante a mitose que resultará na formação de duas células-filhas geneticamente idênticas, há a necessidade da segregação dos cromossomos e os ***microtúbulos*** são peça chave neste contexto. Durante a prófase ocorre a desorganização e o desaparecimento do envelope nuclear e do nucléolo. Os centríolos são duplicados e cada par inicia a migração para os polos da célula.

Os **centríolos** são estruturas que participam na organização dos microtúbulos formadores do fuso mitótico e apresentam estrutura denominada de 9+0 que corresponde a nove trios de microtúbulos periféricos e nenhum microtúbulo central interconectados por diversas proteínas.

Centríolo. Estrutura de um centríolo. Lembre que o corpúsculo basal também apresenta a mesma estrutura (A). Esquema de uma das nove trincas de micro-

túbulos formadoras do centríolo (B). Corte transversal de um centríolo (C). Eletromicrografia do corte transversal de um centríolo (D).

Esta mesma estrutura é encontrada no **corpúsculo basal** ou **cinetossoma** que é responsável pela organização dos microtúbulos formadores dos cílios e flagelos presentes em alguns tipos celulares. A tabela a seguir ilustra a comparação entre **centríolos** e o **corpúsculo basal.**

COMPARAÇÃO ENTRE CENTRÍOLOS E O CORPÚSCULO BASAL	
Centríolos	**Corpúsculo Basal**
Estrutura 9+0.	Estrutura 9+0.
Um par (um centríolo perpendicular ao outro) em células que não estão em divisão. Dois pares em células em divisão.	Cópia única (na base do cílio ou flagelo).
Localização próxima ao núcleo celular.	Próximo à membrana plasmática.
Com matriz centrossômica.▪Estrutura 9+0.	Sem matriz centrossômica.

A análise da figura a seguir revela a presença do **axonema** que corresponde à estrutura contrátil dos cílios e flagelos. O axonema é constituído por nove pares de microtúbulos periféricos e dois microtúbulos centrais formando uma estrutura chamada de **9+2** (C e D) conectados por diversas proteínas acessórias que incluem as proteínas motoras **dineínas** (C).

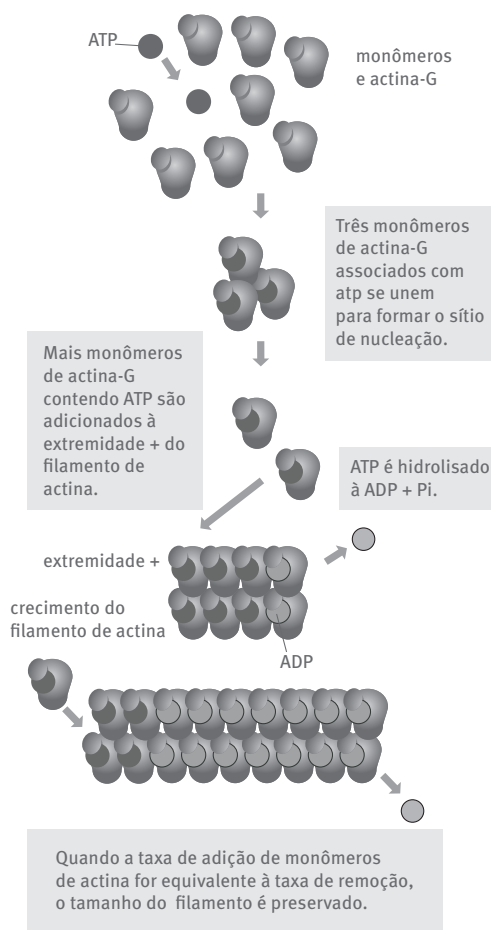
Cílios. Estrutura de um cílio (A). Célula ciliada. Note que o cílio tem origem no corpúsculo basal ou cinetossoma (B). Corte transversal de um axonema (C). Eletromicrografia do corte transversal de um axonema. Note a presença da proteína dineína interagindo com os pares de microtúbulos (D).

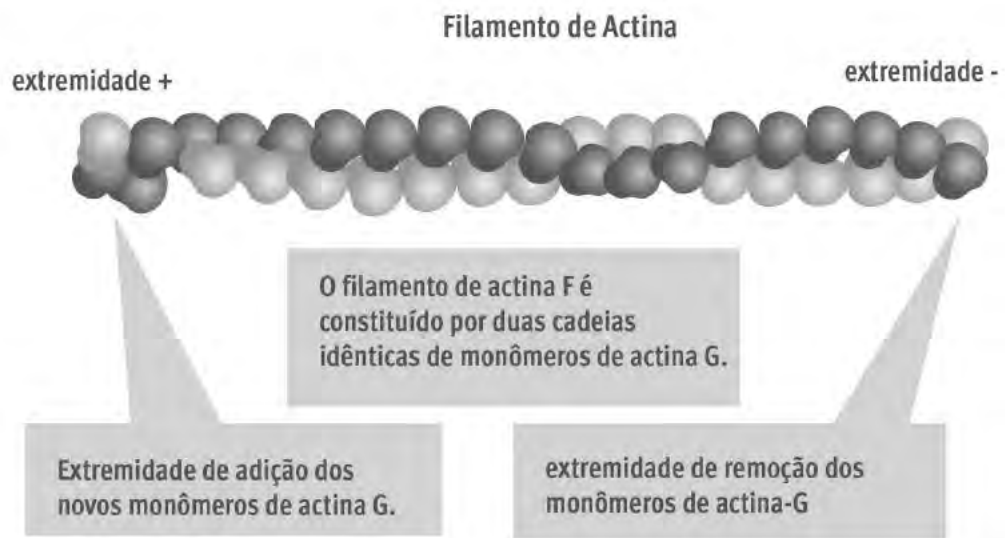
As dineínas participam intensamente no processo de batimento dos cílios e flagelos.

Ação da dineína no batimento de cílios e flagelos. O movimento de cílios e flagelos ocorre devido à atividade da dineína. A dineína de um par se desloca ao longo do microtúbulo B do par vizinho em direção à extremidade (-), promovendo a flexão dos dois pares de microtúbulos. Este evento ocorre com os demais pares e resulta no batimento dos cílios e flagelos.

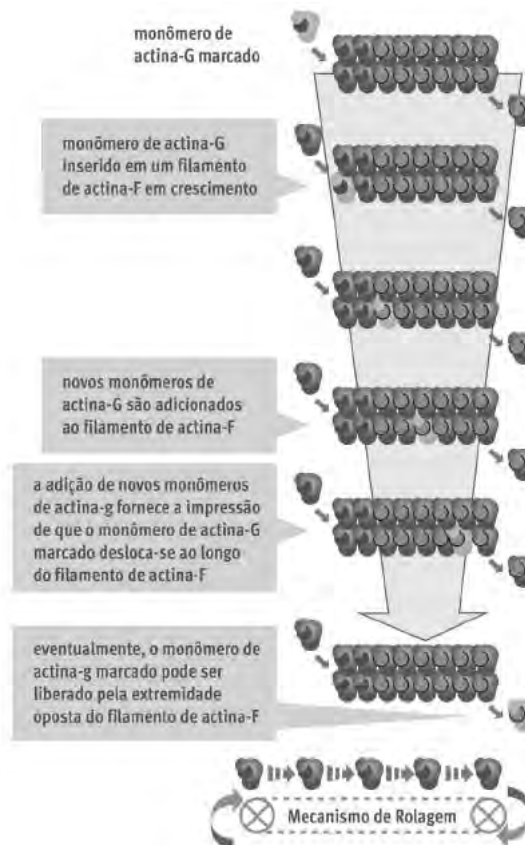
? CURIOSIDADE

Síndrome de Kartagener

Indivíduos acometidos por esta doença costumam apresentar mutações nos genes que codificam para dineína resultando em cílios e flagelos imóveis. Desta forma, células ciliadas do trato respiratório deixam de remover continuadamente bactérias e o material particulado que as alcancem tornando os indivíduos mais propensos ao desenvolvimento de infecções pulmonares. Além disto, a ausência de batimento dos flagelos contribui para a esterilidade masculina.

Filamentos de actina

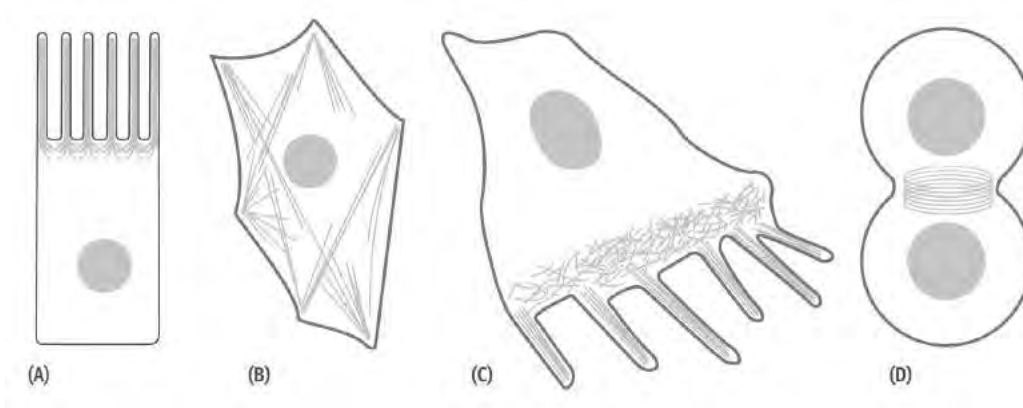
Os filamentos de actina foram inicialmente descritos em células do tecido muscular, no entanto, são encontrados em praticamente todos os tipos de células. Possuem cerca de 7nm de diâmetro e quando comparados com os microtúbulos, os filamentos de actina são mais flexíveis, mais numerosos e geralmente, são mais extensos.

Estrutura dos filamentos de actina

São formados a partir da união de três monômeros de actina globular (G) que constituem um **centro de nucleação** servindo de base para que novos monômeros de actina sejam incorporados. De modo semelhante aos microtúbulos, os filamentos de actina também apresentam extremidades mais (+) e extremidades menos (-). Cada monômero de actina possui um sítio de ligação para ATP (e não GTP, como nos microtúbulos). Os monômeros de actina-ATP apresentam maior afinidade de ligação entre si, permitindo a polimerização dos filamentos de actina. A hidrólise do ATP em ADP, entretanto, desencadeia efeito contrário. Monômeros de actina-ADP possuem menor afinidade de associação, facilitando a despolimerização destes filamentos.

Um filamento de actina F (estrutura fibrosa) é constituído por duas cadeias idênticas de monômeros de actina G.

Polimerização do filamento de actina.

Estrutura do filamento de actina.

Outro fator que distingue os filamentos de actina e microtúbulos diz respeito ao modo de incorporação e remoção dos monômeros. Nos filamentos de actina a entrada de monômeros de actina-ATP acontece na extremidade mais (+) e saída dos monômeros de actina-ADP é efetuada através da extremidade menos (-) em um mecanismo de **"rolagem".**

Mecanismo de rolagem. Note que o monômero de actina-ATP é incorporado a extremidade (+). Este monômero "percorre" a extensão do filamento à medida que monômeros de actina-ADP são perdidos na extremidade (-) e que novos monômeros-ATP são adicionados na extremidade (+).

ATENÇÃO

Quando a velocidade de incorporação de monômeros de actina-ATP se igualar à velocidade de perda, o tamanho do filamento de actina é preservado. Qualquer mudança na taxa de incorporação e remoção desses monômeros implica na alteração do comprimento dos filamentos.

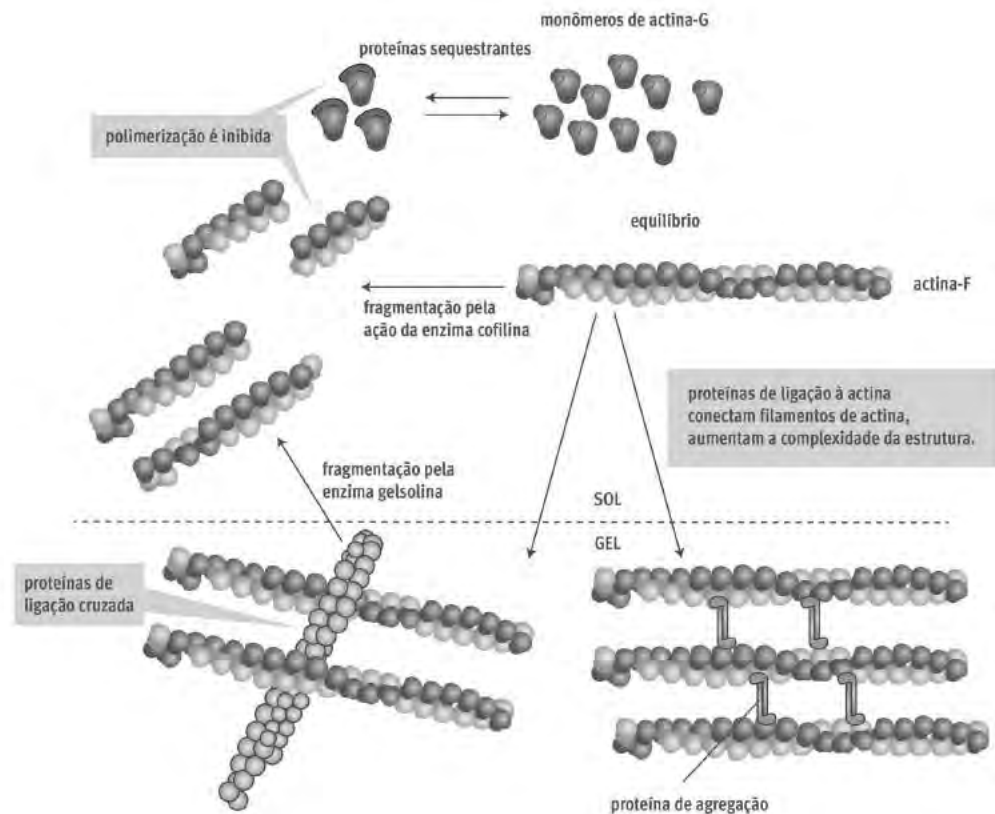
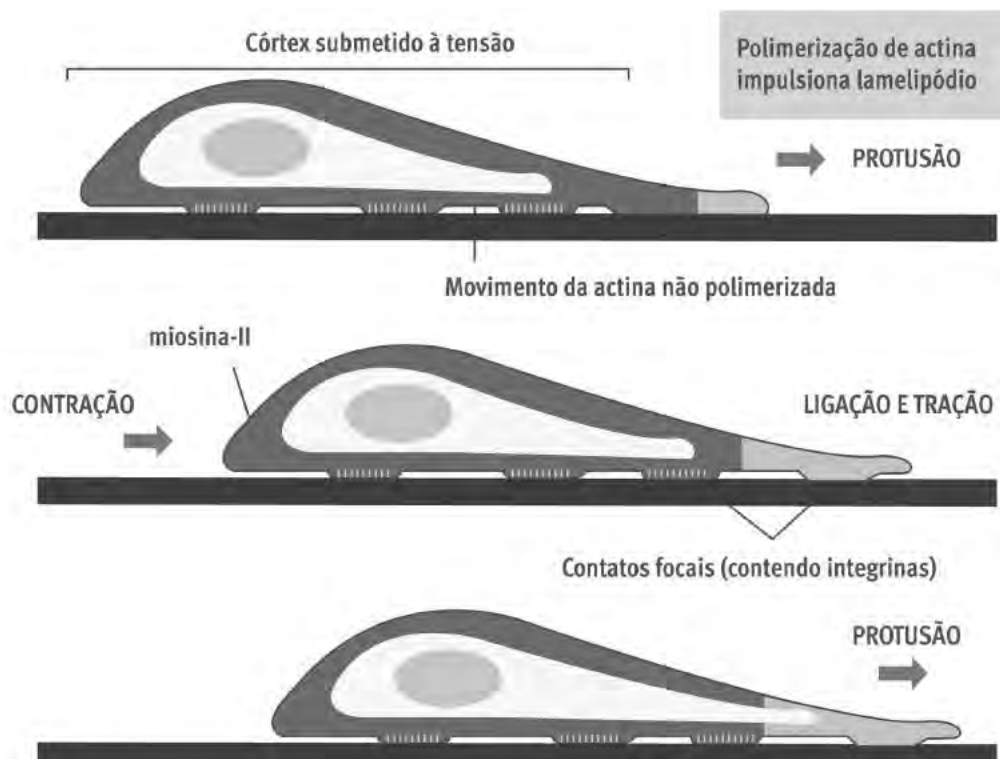
Proteínas que se ligam à actina

Os filamentos de actina permitem que as células assumam diferentes tipos de formas e participem de diversas funções.

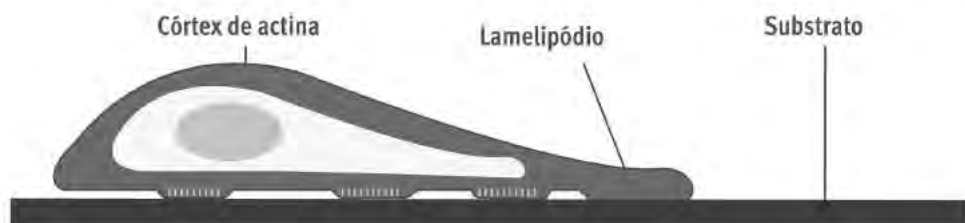
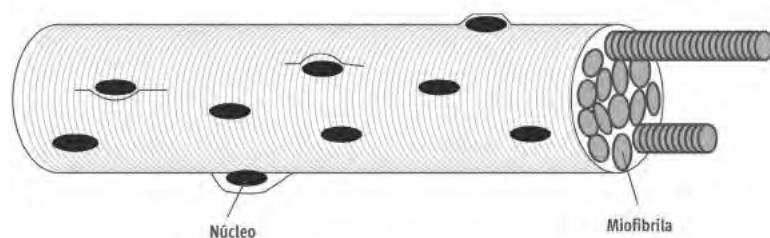
Filamentos de actina em diferentes tipos celulares. (A)Microvilosidades. (B) Feixes contráteis no citoplasma. (C) Protrusões na borda anterior de uma célula em movimento. (D) Anéis contráteis em uma célula em divisão.

ATENÇÃO

Muitas são as proteínas capazes de interagir com os filamentos de actina ou com os monômeros de actina G livres no citoplasma celular, tais como as proteínas *timosina* e a *profilina* que se associarem com os monômeros de actina G livres, sequestrando-os e, consequentemente, dificultando a polimerização dos filamentos de actina. Outras proteínas como as *forminas* e as *ARPs (actin-related proteins),* entretanto, favorecem a incorporação de monômeros de actina e a polimerização dos filamentos de actina.

Além disto, há proteínas responsáveis pela interação e associação entre filamentos de actina promovendo a estruturação de uma verdadeira malha de filamentos de actina que influenciam o estado físico do citosol. Quanto mais estruturados estiverem os filamentos de actina, mais firme estará o citosol (estado gel). Quanto menor a organização do arranjo produzido pela associação dos filamentos de actina, mais livre estará o citosol (estado sol).

Actina e a transição entre estados gel e sol. Proteínas de agregação e proteínas de ligação cruzada contribuem para o aumento da complexidade das estruturas formadas pelos filamentos de actina e, desta forma, contribuem para o estado gel do citosol. Proteínas como a cofilina e gelsolina fragmentam os filamentos de actina, diminuem a complexidade da "rede" de filamentos de actina, de modo que, o citoplasma assuma estado sol.

EXEMPLO

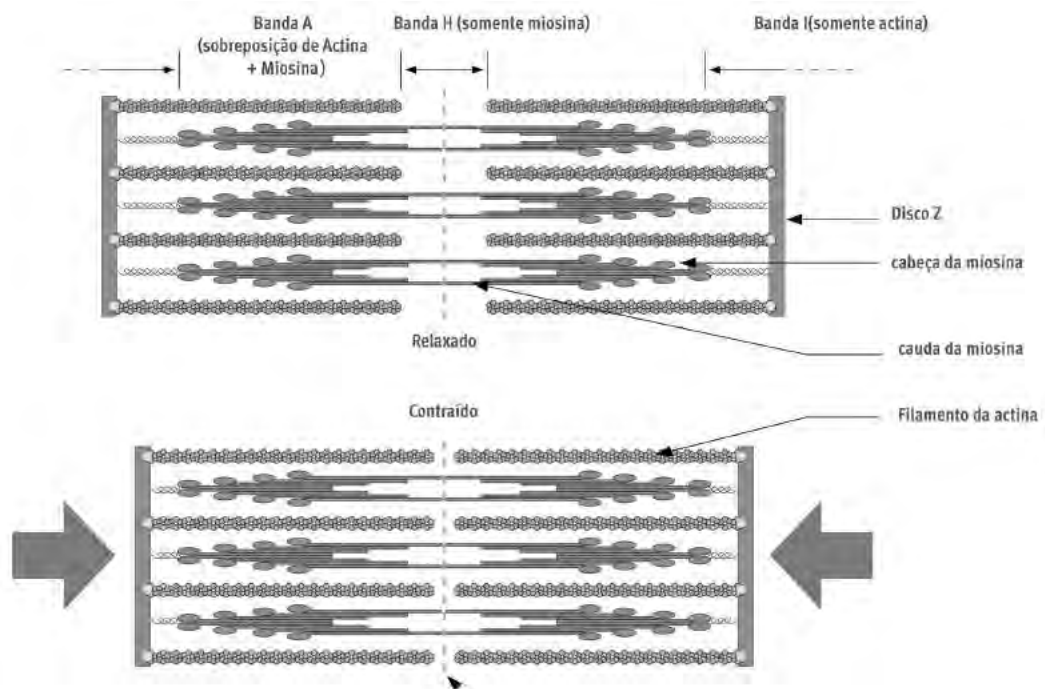
Uma visualização rápida e fácil da importância da transição entre estados gel e sol, e vice-versa, é percebida em células migratórias como os fibroblastos. Nestas células é necessária a construção de uma estrutura de filamentos de actina na região anterior destas células, a fim de, deslocar a célula para frente. Ao mesmo tempo, na região posterior e cortical ocorre um desmonte dos filamentos de actina, contribuindo para a transição do citosol para o estado sol facilitando o deslocamento celular.

Actina e o movimento celular. A polimerização dos filamentos de actina na região anterior impulsiona a membrana para frente (protusão). Na região posterior e cortical ocorre um desmonte dos filamentos de actina, contribuindo para a transição do citosol para o estado sol facilitando o deslocamento celular. A contração exercida pela miosina também contribui para o movimento.

Contração muscular

Correr, nadar, jogar bola e tantas outras atividades do nosso dia a dia necessitam de contração da musculatura.

Mas como isso acontece?
Quem são os personagens que participam desse processo?

As fibras musculares são células gigantes formadas pela união de várias outras menores, originando células polinucleadas chamadas de **sincícios.**

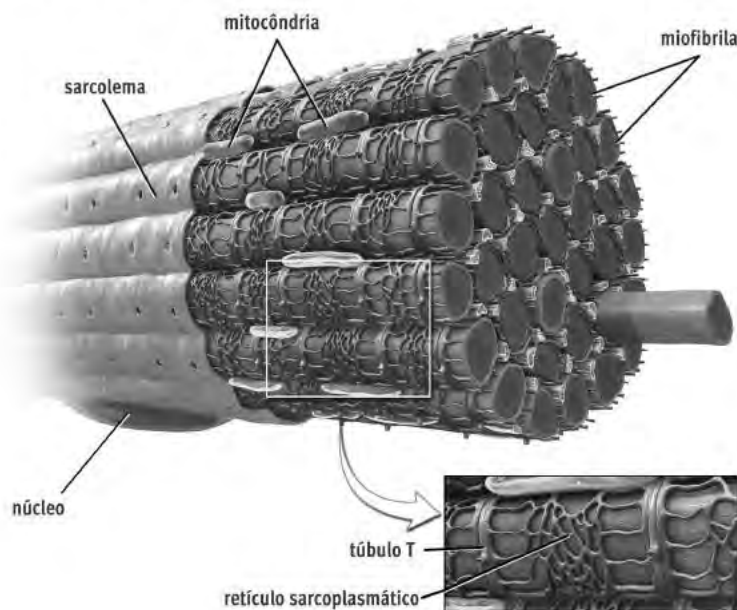
Célula muscular. O citoplasma das fibras musculares é repleto de miofibrilas. Cada miofibrila é composta por vários sarcômeros alinhados lado a lado.

Os vários núcleos remanescentes das células menores estão localizados logo abaixo da membrana plasmática do sincício. O citoplasma das fibras musculares é repleto de longas estruturas lineares chamadas de **miofibrilas.**

CONCEITO

Miofibrilas

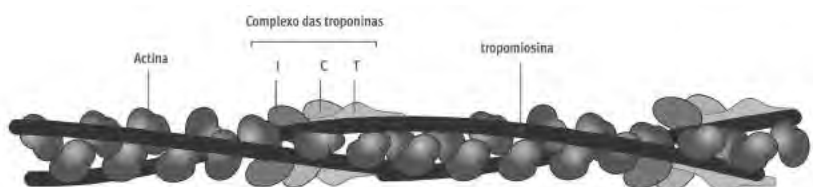
As miofibrilas são constituídas por vários **sarcômeros** dispostos lado a lado.

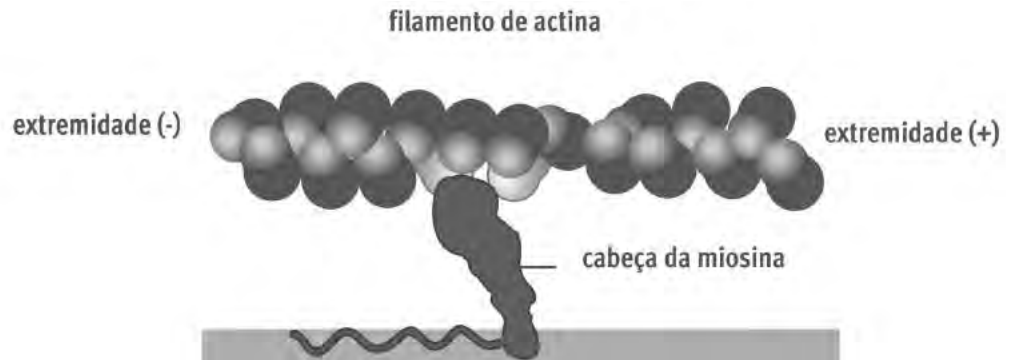
Sarcômeros

Os sarcômeros são formados por filamentos de **actina** e **miosina** paralelos e parcialmente sobrepostos que deslizam uns sobre os outros durante a contração muscular.

As caudas das miosinas II se unem para formarem um filamento bipolar com os domínios globulares expostos. É através dos domínios globulares ATPase que há interação entre os filamentos de miosina e os filamentos de actina durante a contração.

A contração muscular é disparada pelo aumento de Ca^{+2} citosólico

Para que a contração da musculatura esquelética ocorra é necessário inicialmente que as terminações nervosas intimamente associadas à musculatura liberem o transmissor acetilcolina. A acetilcolina se liga a receptores presentes na membrana das células musculares. Tais receptores são canais iônicos que permitem a passagem de íons positivos, principalmente Na^+ e K^+. Desta forma, obedecendo ao gradiente de concentração, há um influxo de íons Na^+ que promove a despolarização da membrana plasmática das células musculares. A despolarização é perpetuada ao longo da membrana atingindo estruturas chamadas de

túbulos T que propagam a despolarização em direção ao retículo sarcoplasmático (variação do retículo endoplasmático nas células musculares) que é um local de armazenamento de íons Ca^{+2}. A despolarização da membrana do retículo sarcoplasmático promove a abertura de canais iônicos para Ca^{+2} que invadem o citosol das células musculares entrando em contato com as **miofibrilas.**

Túbulos T e o retículo sarcoplasmático envolvem as miofibrilas e, desta forma, quando a despolarização alcança a membrana do retículo sarcoplasmático há liberação de íons de Ca^{+2} que entram em contato com as miofibrilas desencadeando o processo de contração muscular.

CONCEITO

Tropomiosina

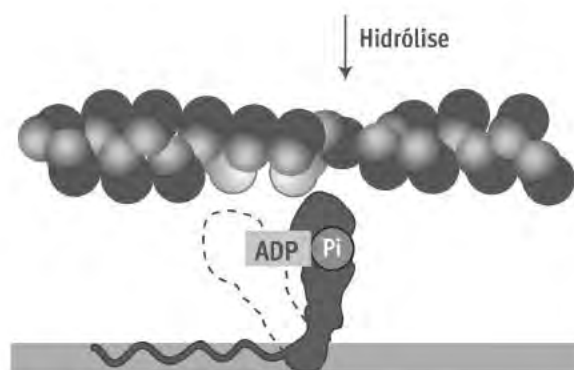
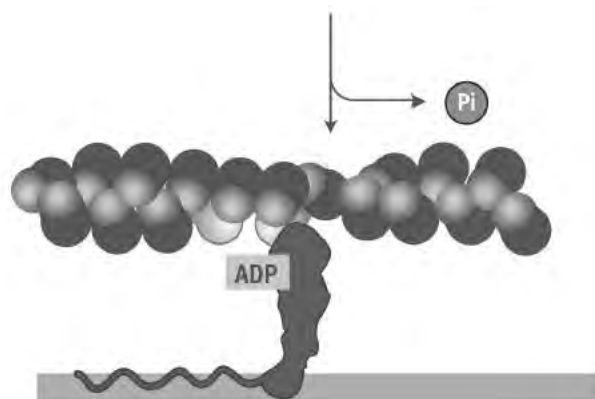
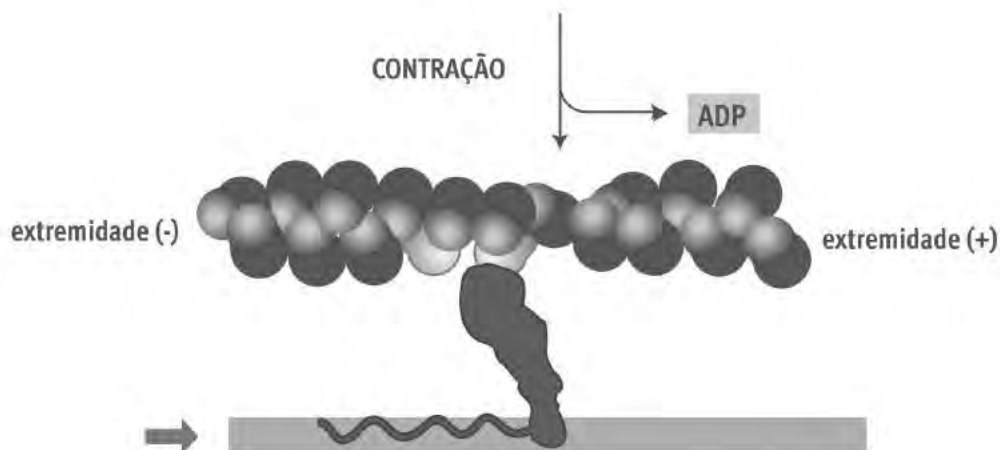
A **tropomiosina** é uma longa proteína em forma de bastão que, no músculo em repouso, é capaz de ocupar o **sítio de ligação** entre a cabeça da miosina e actina. Associada à tropomiosina há um complexo proteico formado pelas proteínas troponinas I, T e C. A **troponina I** inibe o deslocamento da tropomiosina. O complexo das troponinas é mantido unido graças à ação da **troponina T.** No músculo em contração, há uma elevação da concentração de íons Ca^{+2} citoplasmático que se ligam à troponina C. A ligação de Ca^{+2} ativa a **troponina C** que inibe a atividade da troponina I permitindo o deslocamento da tropomiosina e, consequentemente, a liberação do sítio de ligação entre a cabeça da miosina e actina.

Proteína tropomiosina e o complexo proteico troponina I, troponina T, troponina C

Uma análise mais detalhada dos sarcômeros das miofibrilas revela a existência de proteínas dispostas ao longo dos filamentos de actina.

Filamento de actina e proteínas associadas. Proteína *tropomiosina* disposta ao longo do filamento de actina ocupando o sítio de ligação com a miosina e o complexo de troponinas que participa na regulação da contração muscular.

A contração muscular necessita de energia (ATP)

Na contração muscular, a miosina se desloca ao longo do filamento de actina através de ciclos sucessivos de ligação, desligamento e nova ligação.

Em tecidos musculares a miosina encontra-se ligada à actina.

Quando a contração é iniciada, este estado é rapidamente modificado pela presença de ATP. O ATP se associa a um sítio localizado no domínio globular da miosina, promovendo uma mudança conformacional que resulta na separação de ambas.

A atividade ATPase do domínio globular da miosina, promove a hidrólise do ATP em ADP e Pi, ocasionando uma drástica mudança estrutural da cabeça da miosina que desloca-se ao longo do filamento de actina.

A ligação da miosina em um novo sítio da actina ocorre concomitantemente com a liberação de Pi.

A liberação de Pi resulta em uma nova mudança conformacional da miosina que retorna para a estrutura inicial ao mesmo tempo em que ADP é liberado.

Note que a miosina encontra-se agora, ligada a um novo local do filamento de actina e que ao retornar ao formato inicial, a miosina traciona o filamento de actina. Este ciclo pode ser repetido até cinco vezes por segundo, promovendo deslizamento entre os filamentos de miosina e actina e, desta forma, a contração muscular.

? CURIOSIDADE

O *rigor mortis* (rigor cadavérico) ocorre devido ao cessamento da produção de ATP. Na ausência de ATP, a miosina continua unida à actina exercendo ainda, algum nível de tração, justificando, o rigor da musculatura após a morte.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTS, B. et al. *Fundamentos da biologia celular.* 3ªed. Porto Alegre: Artmed. 2011.

ALBERTS, B., BRAY, D., LEWIS J. et al. *Molecular Biology of the Cell.* 5rd ed. 2007.

ALBERTS, B., BRAY, D., LEWIS, J. et al. M*olecular Biology of the Cell.* 3rd ed. 1994.

BOY, R., & SCHWART, I.V.D. As doenças lisossômicas e tratamento das mucopolissacaridoses. In: *Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto.* v. 10 (Supl.2). 2011.

CHANDAR, N. & VISELLI, S. *Biologia celular e molecular ilustrada.* 1ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2011.

COOPER, Geoffrey M.; HAUSMAN, Robert E. *A célula* – uma abordagem molecular. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2007.

DE ROBERTS, E. & Hib J. 2006 *Bases da Biologia Celular e Molecular.* 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

PAUL T. Matsudaira, et al. *Biologia celular e molecular.* 5ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

XIAOFENG,Shen, et al. A cardiolipina é o alvo da cardiotoxicidade dos anestésicos. In: *Rev. Bras. Anestesiol.* Artigo de revisão. 60: 4: 2010. p. 445-454.

IMAGENS DO CAPÍTULO

As figuras utilizadas foram extraídas das seguintes obras e/ou ilustradas po Cláudio Sarmento:

CHANDAR, Nalini e VISELI, Susan. *Biologia Celular e Molecular Ilustrada.* 1ª ed. Porto Alegre Artmed.

ALBERTS, Bruces., et al. *Fundamentos da Biologia Celular.* 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, s/d.

ALBERTS, Bruce; BRAY, Dennis; LEWIS, Julian; RAFF, Martin; ROBERTS Keith; and WATSON, James D. *Molecular Biology of the Cell.* 3rd edition.

ALBERTS, Bruce; BRAY, Dennis; LEWIS, Julian; RAFF, Martin; ROBERTS Keith; and WATSON, James D. *Molecular Biology of the Cell.* 5rd edition.

DE ROBERTS, Eduardo e HIB, José. *Bases da Biologia Celular e Molecular.* 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, s/d.

6

Diferenciação celular, potencialidade e a biologia das células-tronco

VICTOR TÚLIO RIBEIRO
DE RESENDE

6 Diferenciação celular, potencialidade e a biologia das células-tronco

CONCEITO

Diferenciação celular

O processo de diferenciação celular é um fenômeno induzido por fatores intrínsecos e extrínsecos da célula precursora. Isso significa que tanto características elementares de dentro da célula quanto elementos do ambiente em que a célula se localiza, provocam o processo de diferenciação. Esses elementos são a causa, obrigatoriamente, da modificação no controle de expressão gênica da célula precursora até que ela se torne uma célula terminalmente diferenciada.

CONCEITO

Célula- tronco

As características da célula-tronco estão relacionadas à capacidade de proliferar dando origem a duas células-filhas distintas, sendo uma a cópia idêntica da célula-mãe e a outra, uma célula precursora com potencial para se diferenciar em um ou mais tipos celulares. Veremos tais questões de forma aprofundada mais adiante.

A evolução das espécies, ao longo de milhares de gerações, permitiu que organismos simples, unicelulares, se tornassem seres compostos por um número elevado de células, ou seja, serem multicelulares. Isso, em decorrência principalmente dos desafios e modificações oferecidas pela superfície e oceanos do planeta Terra. O conceito da *sopa primordial* foi visto no Capítulo 1.

ATENÇÃO

Juntamente com o surgimento desses organismos multicelulares surgiram, para a formação de seres complexos e funcionais, tipos celulares distintos com características morfológicas e fisiológicas específicas para que, uma vez agrupadas, pudessem exercer seu papel biológico como um órgão ou tecido.

Desta forma, a partir de uma célula precursora primordial proveniente de um brotamento ou após fecundação, ocorre intensa proliferação celular e o processo de ***diferenciação celular***, o qual permite a especialização celular.

REFLEXÃO

O avanço do ganho de conhecimentos sobre a Biologia celular e molecular permitiu a caracterização de muitas moléculas e seus receptores, fatores de transcrição, sequências especificas de genes e proteínas que determinam o potencial de diferenciação de uma célula precursora. Essa célula fundamental recebe, dependendo do cumprimento de algumas características relativamente simples, o nome de *célula- tronco* ou célula primordial.

Neste capítulo, abordaremos aspectos importantes da Biologia celular, que estão relacionados ao fenótipo final de uma célula, desde o seu surgimento a partir de uma célula-tronco até seu destino final como uma célula somática tal como, um neurônio, um cardiomiócito, um fibroblasto, um hepatócito, ou qualquer outra célula terminalmente diferenciada.

Diferenciação celular: especialização e diversidade

Bases fundamentais da diferenciação celular

Durante a formação de um organismo multicelular complexo ocorrem basicamente quatro mecanismos universais do desenvolvimento animal:

A PROLIFERAÇÃO CELULAR
A ESPECIALIZAÇÃO CELULAR
A INTERAÇÃO ENTRE CÉLULAS
O MOVIMENTO CELULAR (MIGRAÇÃO CELULAR)

Conosco, seres humanos, acontece exatamente da mesma maneira. Seguiremos, nesta parte, dando ênfase ao segundo processo, que sabidamente é chamado de diferenciação celular.

ATENÇÃO

A partir da proliferação, surge o número ideal de células precursoras, dentre as quais, por influência do meio ou por características intrínsecas da própria célula, algumas se tornarão especializadas. A partir dessa especialização os dois mecanismos seguintes se tornam viáveis (interação e movimentação celular), permitindo a alocação desta célula terminalmente diferenciada na região adequada, para que o seu papel biológico possa ser exercido.

Qualquer alteração que comprometa o processo de diferenciação celular tem como consequência a morte celular e uma nova tentativa ou compensação do processo de diferenciação, para que a estrutura final possa ser formada adequadamente, seja ela um órgão ou tecido.

Para que uma célula precursora se torne uma célula terminalmente diferenciada é preciso que novas sequências do DNA sejam lidas e o produto desses genes, ou seja, novas proteínas, sejam expressas. Boa parte dessas proteínas formarão elementos estruturais que mudam a estrutura da célula. Sendo assim, a composição celular de microtúbulos, filamentos intermediários e filamentos de actina é modificado, à medida que novas unidades proteicas são adicionadas. Com essas mudanças, a morfologia da célula se altera.

EXEMPLO

Imaginemos uma célula precursora arredondada assumindo uma morfologia complexa como a de um neurônio que contém um corpo celular, axônios e dendritos.

A modificação no padrão de expressão de genes de uma célula, durante o processo de diferenciação, envolve grandes alterações no padrão fisiológico dessas unidades. O produto da leitura desses novos genes também fornece à célula novas proteínas que serão direcionadas para a membrana plasmática ou ficarão contidas no citoplasma. Além disso, proteínas que são enzimas, com a capacidade de catalisar processos metabólicos elementares, viabilizam processos metabólicos específicos do fenótipo o qual a célula se tornará.

Outra parte dessas novas proteínas, quando adsorvidas pela membrana plasmática, forma um grupo importante de elementos chamados de proteínas integrais de membrana. Dentre

esse grupo de proteínas, existem os **receptores,** que basicamente se dividem em três subpopulações de membrana plasmática, os receptores acoplados à proteína G, os receptores/canais iônicos e os receptores do tipo tirosina cinase (como foi visto nos capítulos anteriores). Cada um desses receptores se comporta de maneira diferente quando ativados por um ligante. Quando esse elemento externo chamado ligante se associa ao receptor específico, ativa o receptor que, por sua vez, se acopla a uma proteína G (excitatória ou inibitória) presente na face interna da membrana plasmática. Essa ligação permite então: a abertura de um canal iônico, a ativação de uma via de sinalização ou a modulação da atividade de uma enzima. Os receptores do tipo canal iônico por sua vez, ao serem ativados por ligante, possuem um poro na sua estrutura que permite a passagem de um íon específico e assim há uma alteração fisiológica na célula.

Já o receptor do tipo tirosina cinase possui, no seu domínio intracelular, uma sequência de aminoácidos que constituem uma enzima com capacidade, geralmente, de fosforilar sítios específicos de elementos proteicos contidos no citoplasma celular.

? CURIOSIDADE

Existe uma variação do receptor do tipo tirosina cinase que é denominado pseudo-tirosina cinase do qual a enzima não faz parte da proteína que constitui o receptor, mas se associa a ele quando ocorre a ativação por um ligante.

Existem outras proteínas direcionadas à membrana plasmática que atuam como canais iônicos e permitem o fluxo de íons de maneira especifica na célula terminalmente diferenciada. Além disso, outras proteínas recém-sintetizadas devido a diferenciação, podem agir na membrana plasmática como um elemento regulatório da fluidez da membrana.

Parte desses novos elementos produzidos a partir da diferenciação celular pode ser direcionada ao meio extracelular, isto é, eles são exportados através de secreção celular.

EXEMPLO

A exportação através de secreção celular ocorre, na maioria das situações, através de vesículas. Muitos desses elementos são fatores solúveis com a capacidade de se ligar a componentes da matriz extracelular (MEC) ou formarem propriamente a MEC. Dentre os elementos produzidos pela célula diferenciada que compõem a MEC destacam-se o colágeno, a laminina, a fibronectina e unidades de proteoglicanos ou glicosaminoglicanos.

Outra parte do produto do novo padrão de expressão gênica é constituída por elementos distintos e solúveis no citoplasma que, quando alinhados, formam as diversas vias de sinalização intracelular.

ATENÇÃO

Essas vias de sinalização são ativadas no sentido da membrana plasmática para o núcleo celular quando um ligante fora da célula se associa a um receptor específico, dando início ao processo. Em seguida, através de mecanismos de fosforilação um elemento ativa o seguinte e assim se obtém o que é chamado de cascata de sinalização.

Uma célula ao se diferenciar adquire diversos elementos que se organizam formando as inúmeras vias de sinalização existentes em uma célula madura. De maneira geral, cada via de sinalização exerce um efeito específico sobre a célula podendo modular funções no citoplasma, no núcleo celular e, em alguns casos, na própria membrana plasmática, na qual a via de sinalização foi ativada.

EXEMPLO

Dentre as vias de sinalização bem elucidadas destacam-se: a via de PI3-cinase (phosphatidil insitol-3 cinase) que geralmente induz a sobrevivência celular; a via das MAPK cinase (proteína cinase ativada por mitógeno), que geralmente está associada à progressão de ciclo celular, ou seja, à proliferação celular; a via de mTor, que pode estar associada ao crescimento celular e a via de Jun cinase que, muitas vezes, quando ativada, leva à morte celular programada, conhecida como apoptose.

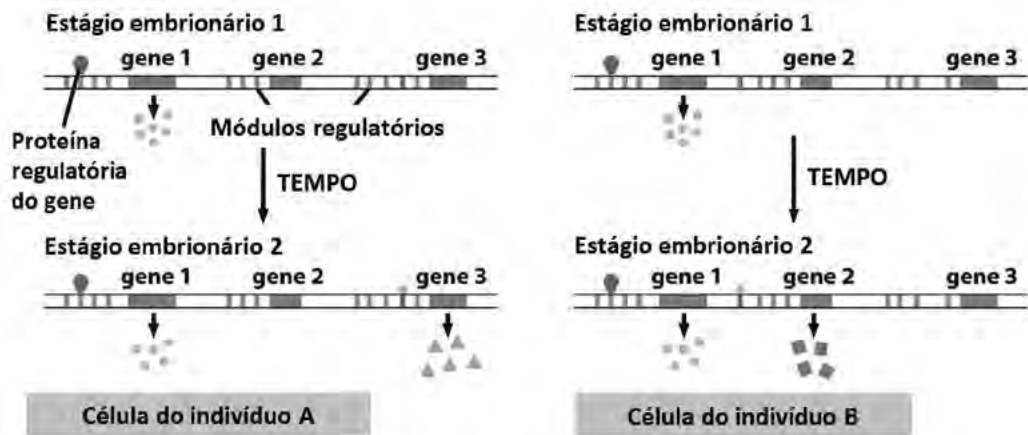
A alteração nas características de uma célula, durante o processo de diferenciação, passa também pela modificação no perfil de açúcares e lipídeos. Estes, por sua vez, têm um padrão de produção alterado à medida que enzimas específicas de síntese ou degradação dessas moléculas são produzidas com alteração no padrão de expressão gênica. Assim, os padrões de glicosilação e formação de glicoconjugados, a síntese de lipídeos adicionados à membrana plasmática, bem como a formação de glicolipídeos contribuem para a modificação da célula com a diferenciação celular. Todas as características descritas acima constituem o processo de diferenciação celular.

Boa parte dos processos iniciais de diferenciação celular ocorre durante o desenvolvimento embrionário, no qual as estruturas do organismo multicelular ainda são rudimentares.

COMENTÁRIO

A seguir, veremos como uma célula precursora perceberia as alterações no meio externo e como isso levaria a diferenciação para o fenótipo correto. Além disso, estudaremos qual a natureza dos elementos capazes de produzir tamanha transformação, tão importante para a progressão do desenvolvimento embrionário ou para a manutenção do número adequado de células que compõe um tecido adulto.
Daremos ênfase a esses aspectos no próximo tópico.

Fatores intrínsecos e extrínsecos induzem a diferenciação celular

O que faz uma célula precursora se transformar em uma célula terminalmente diferenciada?

Sinais através do contato célula-célula, bem como fatores solúveis que contém receptores específicos na célula precursora induzem a diferenciação terminal. Ou seja, a célula assume o seu fenótipo definitivo em um microambiente tecidual.

Devemos nos perguntar também, o que faz essa célula se transformar, por exemplo, em um fibroblasto em vez de se transformar em um neurônio? Certamente, o ambiente em que essa célula se encontra é muito importante para que esses padrões se definam. Mas existem também características intrínsecas, de um grupo de células precursoras que também determinam um caminho natural de diferenciação o qual essa célula pode seguir até a sua diferenciação terminal.

Sem que haja a influência do meio externo uma célula precursora terá um fenótipo diferenciado, que segue um programa genético preestabelecido.

Há, no programa genético, uma combinação de fatores que geram um resultado final. O ambiente influencia a diferenciação através da sinalização por pequenas moléculas, geralmente pequenos peptídeos, chamados de fatores de transformação, que se ligam a um receptor específico. Esse receptor ativado aciona uma via de sinalização que direciona uma mensagem para o núcleo celular. Uma vez sinalizado, o núcleo celular ativa elementos chamados de fatores de transcrição. Como bem diz o nome, esses fatores, por sua vez, vão permitir a transcrição de sequências especificas de DNA, os chamados genes, cujas mensagens irão codificar sinais em forma de pequenos peptídeos capazes de induzir leitura ou repressão de outros genes. Um mesmo fator de transcrição induzido em células precursoras diferentes ou em estágios diferentes de diferenciação da mesma célula, podem controlar a "desrepressão" ou repressão de genes diferentes.

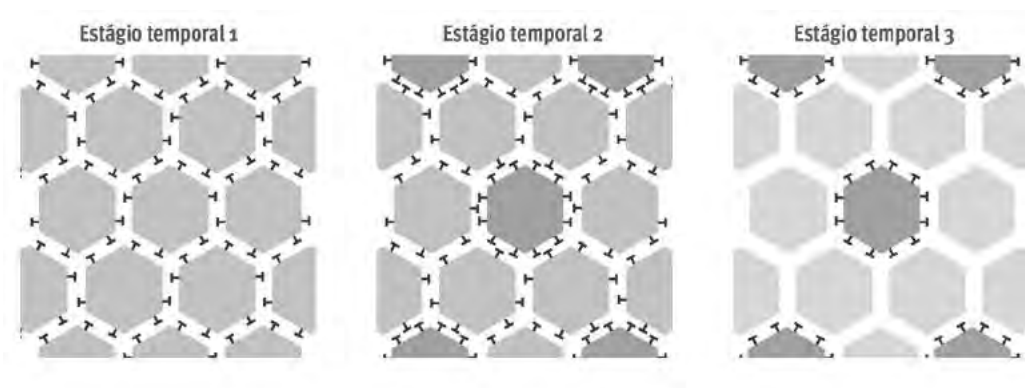
Fonte: adaptada de ALBERTS et al. Molecular Biology of the Cell. New York, Garland Science, 2007

Como o DNA regulatório define o sucesso do padrão de expressão gênica durante o desenvolvimento. Figura ilustrativa demonstrando como o produto de um gene regulatório pode modular a expressão gênica de forma distinta em dois indivíduos diferentes. Repare que a proteína regulatória, representada pelas bolinhas cinzas, se associa a sítios distintos nos indivíduos A e B.

Isso certamente reflete uma estratégia da natureza para que, a partir de um mesmo elemento possam ocorrer diferentes fenômenos moduladores sobre uma sequência de nucleotídeos do DNA. Acontece que, mesmo não havendo a presença de um fator indutor, capaz de ativar um receptor que induza a diferenciação de uma célula precursora para um fenótipo A, haverá a diferenciação natural dessa célula precursora para um fenótipo B. Isso devido a características intrínsecas do programa nuclear da célula precursora.

ATENÇÃO

O fator indutor pode ser inativado por outro elemento chamado de fator inibidor. Uma vez bloqueado, o fator indutor é impedido de se ligar da forma correta ao seu receptor e induzir a diferenciação para o fenótipo A. Consequentemente, a célula precursora dará origem ao fenótipo B, seguindo seu programa celular intrínseco, independente do sinal externo. Corrigindo uma ideia quase intuitiva, em vez de o fator de transformação A conduzir a diferenciação para o fenótipo A e o fator de transformação B conduzir a diferenciação para o fenótipo B é correto imaginar que apenas o bloqueio ou inativação do fator A é suficiente para induzir o fenótipo B.

Assim, podemos concluir que, existe um padrão de diferenciação intrínseco dessa célula precursora, independente de sinais do meio externo. Um termo do inglês comumente utilizado para definir essa característica é *default.* Nada mais do que um padrão. Isso nos leva a imaginar que para a diversidade de tipos celulares existentes em organismos multicelulares, deva existir um número expressivo de células precursoras, e isso é totalmente correto. Desta forma, há um controle refinado ao longo do desenvolvimento embrionário sobre a geração da diversidade celular. Este aspecto será bem esclarecido no tópico sobre a biologia das células-tronco e a geração de células precursoras.

Se imaginarmos os estágios bem iniciais do desenvolvimento embrionário, logo nos perguntaremos:

Como um sistema de sinalização tão robusto poderia ocorrer entre células em número tão reduzido e ainda em um estágio tão rudimentar?

Na verdade, esse é um sistema se sinalização dependente do contato célula-célula, o que é relativamente simples se compararmos a secreção de morfógenos, sinalização através de uma sinapse ou um mecanismo endócrino. E ele se propõem apenas a reprimir o curso natural de uma célula precursora, que é a diferenciação. Não podemos esquecer que, na ausência de sinais indutores, sejam eles quais forem, as células precursoras têm um programa intrínseco de diferenciação pré-determinado.

Para esclarecer este questionamento dois aspectos devem ser mencionados:

1	A capacidade secretória de células nos estágios iniciais do desenvolvimento, isto é, durante as clivagens, é muito reduzida ou inexistente.
2	A sinalização entre células ocorre por contato célula-célula, de forma que, tanto o ligante como o receptor estão ancorados à membrana plasmática. Através do contato célula-célula ocorre um fenômeno chamado de inibição lateral.

Efeito inibitório lateral

Figura ilustrativa demonstrando, em três estágios distintos, o efeito inibitório exercido por sinais existentes na superfície de células indiferenciadas (estágio 1). À medida que esse efeito se torna mais intenso, em subpopulações celulares, inicia-se a diferenciação celular da população inibidora em verde escuro (estágio 2). Em seguida, ocorre a diferenciação das células que perdem a capacidade inibitória (estágio 3). Note a mudança de cores entre os estágios, o que representa a diferenciação em tipos celulares distintos.

Este fenômeno consiste na interação de um ligante com o seu receptor, sendo que ambos estão presentes na superfície de cada uma das células. Essa interação mantém as células no seu estado indiferenciado, em decorrência da repressão de genes que promovem diferenciação celular. Em um dado momento, com a progressão do desenvolvimento embrionário, uma das células passa a expressar uma quantidade maior do ligante, passando a exercer um efeito inibitório mais intenso sobre a célula vizinha. Ao mesmo tempo, essa mesma célula se torna resistente ao efeito inibitório induzido pela célula vizinha, à medida que o seu receptor perde a sensibilidade ao ligante. O resultado dessa mudança é que cada uma das células, que inicialmente eram iguais, se diferenciam em fenótipos distintos.

Com a progressão do desenvolvimento embrionário e o surgimento de uma matriz extracelular rudimentar, as células se tornam mais amadurecidas e adquirem a capacidade de secretar pequenas moléculas que se concentram no meio externo formando um gradiente de concentração.

ATENÇÃO

Estas moléculas agem sobre as células vizinhas e esta atividade é chamada de efeito parácrino.

Algumas destas moléculas têm a capacidade de induzir a diferenciação das células vizinha, desde que elas tenham o receptor para essa molécula que é chamada de morfógeno. Uma molécula secretada por uma célula, forma um concentrado maior em regiões mais próximas da fonte do que a algumas células de distância. Essa diferença de concentração é percebida pelas células da vizinhança e esse gradiente faz com que o morfógeno seja um indutor de diferenciação celular, desde que haja uma concentração mínima suficiente para induzir o fenômeno. Em suma, variações de concentração também são importantes para definir se haverá diferenciação celular para o tipo celular A, B ou C de acordo com o potencial de sensibilização da célula precursora.

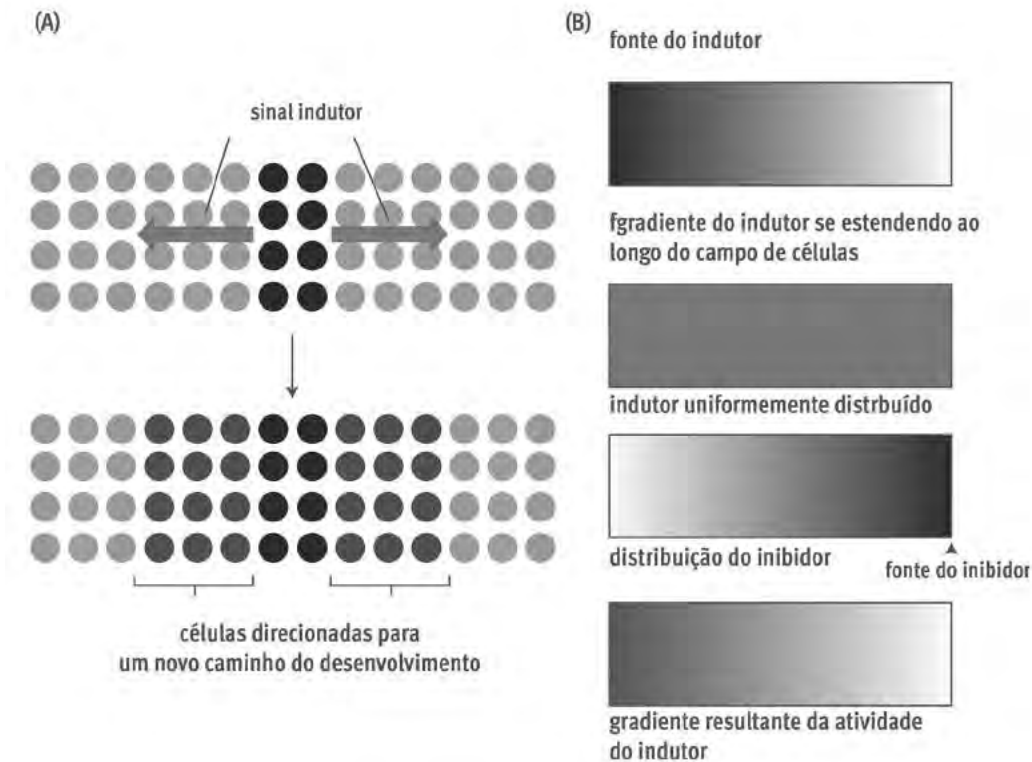



Figura 3 Adaptada de: Molecular Biology of the Cell; Alberts et al., 2007 Garland Science, New York ALBERTS et al. Molecular Biology of the Cell. New York, Garland Science, 2007.

O efeito parácrino e a variação de concentração do morfógeno.

A- Figura ilustrativa demonstrando o efeito do sinal indutor produzido por uma fonte (células grafite) e agindo sobre células precursoras (células cinza-escuro) determinando o destino final de diferenciação das células que estão próximas da fonte (células cinza-claro). As setas horizontais indicam o espectro de ação do sinal indutor.

B- Figura ilustrativa autoexplicativa sobre o gradiente de distribuição do fator indutor (primeiro e segundo retângulos) e inibitório (terceiro retângulo), bem como o perfil resultante de atividade do fator indutor (quarto retângulo).

Recentemente, foi demonstrado que algumas moléculas com papéis biológicos bem elucidados, fora do contexto de diferenciação celular, podem se comportar como moléculas indutoras de diferenciação celular em um período específico da formação de um órgão ou tecido. Isso demonstra novos papéis biológicos para moléculas já caracterizadas há algumas décadas. A comunicação entre células pode ocorrer de quatro formas básicas, sendo elas:

O contato célula-célula – demonstrado no efeito de inibição lateral;

A comunicação parácrina – uma molécula secretada por uma célula exerce seu efeito sobre as células vizinhas, como demonstrado no exemplo sobre o efeito do gradiente de concentração de uma molécula;

A comunicação através de um hormônio – no qual uma molécula secretada por um grupo de células, obrigatoriamente, cai na corrente sanguínea e exerce seu efeito sobre um grupo de células pertencentes a outro órgão e tecido;

Sinalização através de um neurotransmissor.

Este último exemplo ocorre exclusivamente no neurônio, cuja projeção do corpo celular, chamado de axônio, libera esta molécula dentro de uma região muito restrita chamada de fenda sináptica e é reconhecida por um receptor presente principalmente na superfície de outro neurônio.

ATENÇÃO

Em períodos tardios do desenvolvimento embrionário, quando hormônios e neurotransmissores já são produzidos, há indução à diferenciação de células precursoras por esses elementos.

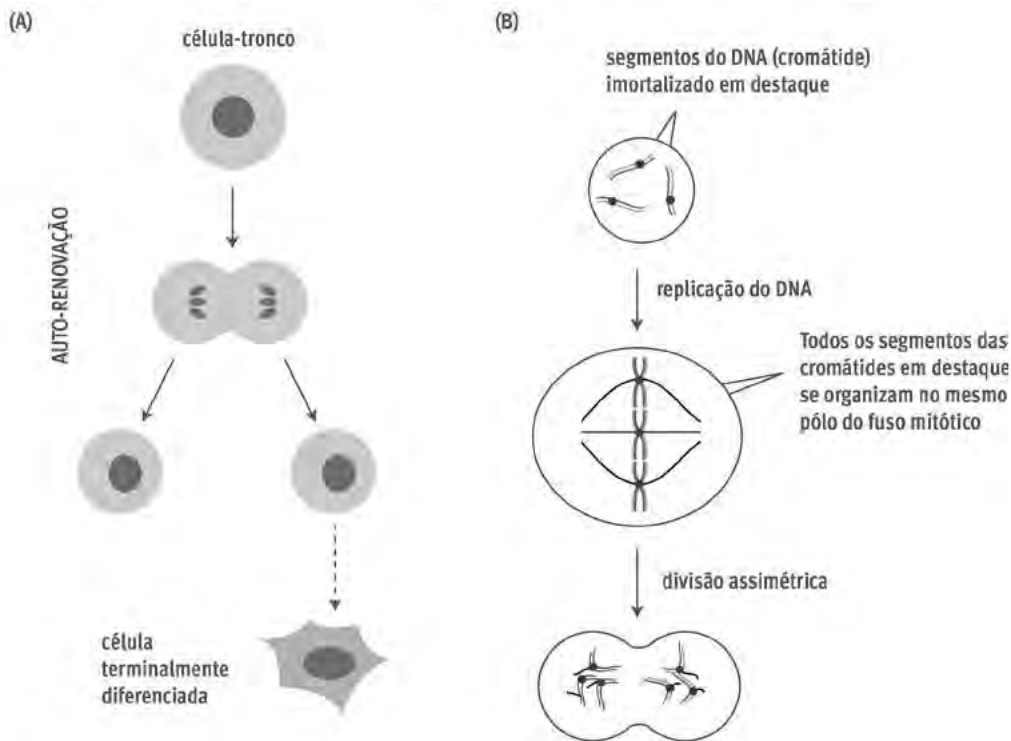
EXEMPLO

A dopamina, um neurotransmissor produzido por um grupo específico de neurônios cujos axônios estão presentes, na medula espinhal, ainda em formação, induz a diferenciação de células precursores em neurônios da medula espinhal. De maneira semelhante, o paratormônio secretado pela glândula paratireoide pode induzir a diferenciação de células precursoras da medula óssea (monócitos) em osteoclastos.

Isso demonstra que a natureza tende a otimizar seus sistemas biológicos, agregando funções distintas à mesma molécula, tanto durante o desenvolvimento embrionário quanto na fase adulta de um organismo.

A biologia das células-tronco

Definições e características básicas

Muito tem se falado sobre células-tronco, nos últimos anos, principalmente sobre o potencial dessas células em terapias celulares voltadas para a medicina regenerativa. Houve de fato um grande avanço, nos últimos 15 anos, a respeito da utilização dessas células para repor populações celulares comprometidas em decorrência de uma doença ou uma lesão. Muitos grupos de pesquisa acreditam que os tratamentos à base de células-tronco abriram uma nova era, no tratamento das doenças, se comparado a outros períodos da História como a descoberta dos antibióticos ou o desenvolvimento da Medicina Nuclear.

ATENÇÃO

As células-tronco têm o seu devido lugar dentro dos sistemas biológicos multicelulares, assim como qualquer outro tipo celular. É muito importante deixar claro que, as células-tronco não são uma invenção feita a partir das últimas décadas, com os avanços da Biotecnologia. Estas células foram caracterizadas segundo a sua capacidade de dar origem desde todas as células de um organismo (alta potencialidade) até um pequeno grupo de células de um órgão ou tecido (baixa potencialidade).

COMENTÁRIO

Um grande número de pesquisadores vale-se da potencialidade das células-tronco, isto é, da possibilidade de conduzir a diferenciação de acordo com a necessidade apresentada em um modelo experimental de laboratório ou frente a uma doença ou lesão em uma pesquisa clínica.

A célula-tronco, por definição, é uma célula com capacidade de se autorrenovar através de um processo chamado de divisão assimétrica. Para entender o que é divisão assimétrica podemos compará-la com a divisão simétrica, onde uma célula sofre mitose dando origem a duas células idênticas. Na divisão assimétrica, a célula-mãe dá origem a duas células diferentes. Durante divisão de uma célula-tronco, ocorre a formação de uma cópia idêntica à célula-mãe e a outra célula que é chamada de amplificadora transitória. Desta forma, uma célula-tronco tem a capacidade de sofrer autorrenovação para que a população de células-tronco seja preservada, durante o desenvolvimento embrionário, durante o crescimento pós-natal e mesmo durante a fase adulta. Observações experimentais com culturas de células-tronco, utilizando uma estratégia de reconhecimento do DNA recém-sintetizado, demonstra que, durante o processo de autorrenovação de uma célula-tronco, o DNA da célula-mãe é integralmente transferido para a célula-filha que é a sua cópia idêntica. Sendo assim, a célula amplificadora transitória contém, não apenas 50% de DNA novo, como ocorre em células derivadas de uma divisão simétrica, mas sim, um DNA 100% novo.

Células-tronco fazem autorrenovação por divisão assimétrica e conservam seu DNA.
A- Figura ilustrativa demonstrando o processo de autorrenovação que ocorre em célula-tronco, a partir de uma divisão assimétrica, onde uma célula-filha é a cópia idêntica da célula-mãe e a outra célula-filha é uma célula precursora (célula amplificadora transitória) com potencial para se tornar uma célula diferenciada.
B- Esquema da organização das cromátides contendo o DNA original da célula-mãe (cinza-claro, célula-tronco original) durante a divisão celular na qual há o pareamento em apenas um polo do fuso mitótico.

Este fenômeno ocorre porque as cromátides do núcleo de uma célula-tronco são imortalizadas e se alinham totalmente apenas de um lado do fuso mitótico, durante a fase de mitose (M) do ciclo celular. Este mecanismo é uma estratégia muito importante da natureza para minimizar ao máximo a possibilidade de mutações que modifiquem definitivamente o genoma de uma população de células. Isso porque, a célula precursora fundamental (a célula-tronco) sempre conservará o genoma ancestral.

A célula amplificadora transitória, por definição, é a célula-filha de uma célula-tronco, que possui alta capacidade proliferativa e que pode dar origem às células precursoras comprometidas com o fenótipo celular de um tecido específico. Seja ele tecido embrionário, muscular, nervoso, hepático ou epitelial, dentre todos os demais que dão suporte ao desenvolvimento embrionário ou que formam um indivíduo adulto. Isso significa que uma célula-tronco, por mais que tenha uma taxa de proliferação lenta (isto é, progressão lenta de ciclo celular), a medida que ela sofre autorrenovação, um número exponencialmente maior de células precursoras é formado. O número exato de células precursoras depende, diretamente, da demanda que um tecido tenha em um dado momento da sua formação ou da renovação tecidual na fase adulta.

EXEMPLO

O fígado de um rato é menor que o de um humano, apesar de ambos serem órgãos que contém hepatócitos com uma fisiologia muito semelhante. Acontece que o número de divisões que uma célula amplificadora transitória sofre é expressivamente maior em humanos, resultando em um número maior de células precursoras o que, consequentemente, importa em um número muito maior de hepatócitos do que o fígado do rato. Porém, por mais trivial que pareça, é importante frisar que o hepatócito de um rato tem o mesmo tamanho que o hepatócito de um ser humano ou de um elefante. A diferença no tamanho dos órgãos está no número de células que compõe cada um deles.

A célula amplificadora transitória dá origem às células precursoras que por consequência vão se tornar uma célula terminalmente diferenciada. Este processo de transformação ocorre por diferenciação celular e envolve todos os mecanismos descritos no tópico anterior. No momento em que células-tronco se diferenciaram em células precursoras, dois fatores indicam quais fenótipos surgem.

1 Potencialidade da célula-tronco – quanto maior for a potencialidade de uma célula-tronco maior é o número de tipos (fenótipos) celulares gerados.

Isso já abre um precedente para imaginarmos que existem tipos diferentes de células-tronco, o que será intensamente abordado mais adiante.

2 Ambiente que a célula precursora se encontra – cada ambiente fornece uma composição de fatores que direciona a diferenciação para tipos celulares distintos, como descrito anteriormente.

Dentro deste contexto, um aspecto importante sobre a conservação de células-tronco é a capacidade de uma porcentagem pequena das células de um tecido (em torno de 0,1 a 0,001% dependendo do órgão ou tecido) de se manterem como células-tronco em uma região muito bem definida do tecido. Essa habilidade permite que, o número de amplificadores transitórios e consequentemente células precursoras, sejam gerados de acordo com a necessidade do tecido adulto de renovar células que naturalmente morrem após cumprirem o seu papel biológico. Isso sugere uma relação direta entre a presença de célula-tronco e a capacidade de renovação celular de um órgão ou tecido.

CONCEITO

Gametogênese

Formação do óvulo e do espermatozoide, ambos com carga cromossomal reduzida à metade (células haploides)

CONCEITO

Zigoto

Célula primordial que potencialmente tem a capacidade de formar um indivíduo. Isso não apenas pela capacidade de dar origem a todas as células desse organismo, mas também pela capacidade de gerar células que formam estruturas que dão o suporte correto para o desenvolvimento embrionário.

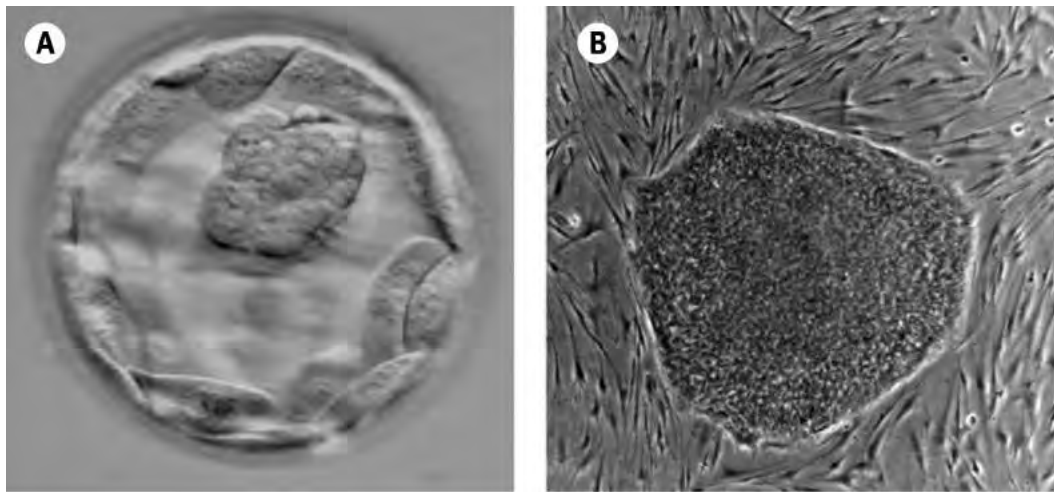
A potencialidade das células-tronco: totipotência, pluripotência, multipotência

Um dos fenômenos mais espetaculares da Biologia Celular, desde que organismos multicelulares complexos passaram a habitar a superfície da Terra, é a capacidade de uma célula fundamental formar trilhões de células com mais de cem fenótipos distintos. E esses tipos celulares ainda são capazes de se organizar perfeitamente em grupos capazes de formar órgãos e sistemas independentes que operam em perfeita sincronia com outros órgãos e tecidos do mesmo organismo.

REFLEXÃO

A biologia das células-tronco teve um papel fundamental na evolução das espécies complexas. Tal papel existe desde organismos multicelulares extremamente simples como os poríferos, até seres extremamente complexos como os vertebrados superiores. Naturalmente, o número de células derivadas de uma célula-tronco de poríferos, dá origem a um número infinitamente reduzido, se comparado à célula-tronco primordial de um vertebrado superior. Assim, o conceito de potencialidade está diretamente relacionado ao número de células que podem se originar a partir do mesmo precursor comum. Isso nos permite imaginar que o número de etapas de diferenciação para que uma muda, um ovo ou zigoto se torne uma célula terminalmente diferenciada varie de acordo com a complexidade do organismo multicelular que está sendo analisado.

Para entendermos com clareza os diferentes tipos de células-tronco e sua potencialidade continuaremos o enfoque no desenvolvimento embrionário e à fase adulta de mamíferos. Essa sugestão se deve, pois, os melhores exemplos didáticos são encontrados analisando espécies dessa classe. A geração da primeira célula-tronco de um mamífero se dá através da fecundação, antes disto, ocorre a ***gametogênese*** em espécies que são férteis.

A fecundação permite a soma dessas cargas cromossomais através da fusão dos pró-núcleos, dando origem ao ***zigoto***.

Essas células formam os anexos embrionários que, em mamíferos, são bem representados pela placenta. Por esse potencial de originar tanto as células que constituem o indivíduo quando as células que viabilizam a sua formação, o zigoto é chamado de célula-tronco totipotente. A totipotência representa a maior potencialidade que uma célula-tronco possui.

O período imediatamente após o surgimento do zigoto caracteriza a clivagem, na qual ocorrem as primeiras divisões celulares. Essas divisões celulares por mitose dão origem à mórula e à blástula. Neste período, ainda não há diferenciação celular, no entanto, na fase seguinte, chamada de gastrulação, surge o blastocisto. O blastocisto é composto por uma massa de células que sofreram o primeiro processo de diferenciação celular, em que, a massa de células que recobre essa estrutura arredondada está comprometida fenotipicamente para dar origem às células que formarão os anexos embrionários. A segunda população de células constitui a massa celular interna. A partir desta massa de células serão formados todos os órgãos e tecidos do novo indivíduo, inclusive as células germinativas imaturas que permitirão suas características de descendente fértil. Este aglomerado celular contém as células-tronco embrionárias. A massa celular interna é constituída por células-tronco embrionárias (as famosas), que têm o potencial de gerar todas as células de um indivíduo, menos aquelas células que formam os anexos embrionários.

Células-tronco embrionárias: Origem, cultivo e diferenciação.

A- Fotografia, em baixo aumento, de um blastocisto onde a massa celular interna pode ser visualizada.

B- Fotomicrografia em contraste de fase demonstrado um agregado de células-tronco embrionárias (centro) em seu estado indiferenciado, cultivadas sobre um tapete de fibroblastos embrionários (laterais) que atuam como uma camada alimentadora.

ATENÇÃO

Células-tronco embrionárias são pluripotentes. A potencialidade dessas células é reduzida em relação ao zigoto que é totipotente, apesar de serem as células-tronco que formam todas as células terminalmente diferenciadas do indivíduo. Acontece que, sem a formação de células que constituem os anexos embrionários o desenvolvimento intrauterino é inviável. Por este motivo, a potencialidade de uma célula-tronco totipotente (zigoto) é caracterizada pela capacidade efetiva de gerar um novo indivíduo.

Ainda durante a gastrulação (fase do desenvolvimento embrionário), ocorre o primeiro e o segundo processo de diferenciação das células-tronco embrionárias.

1	Surge uma pequena região central, na massa celular interna, que contém as células precursoras que formarão as células germinativas, isto é, aquelas células que, no futuro, durante a fase adulta, garantirão a fertilidade do indivíduo.
2	Através do processo de diferenciação, juntamente com intensos movimentos migratórios, surgem os três folhetos germinativos (ou folhetos embrionários).

Estas estruturas, derivadas das células-tronco embrionárias, são denominadas de:

ECTODERME	MESODERME	ENDODERME

! ATENÇÃO

As células pós-diferenciadas, que formam cada um desses folhetos germinativos, também são células-tronco, porém com a sua potencialidade ainda mais reduzida.

Essa potencialidade é reduzida, pois as células-tronco, que constituem os folhetos germinativos, estão comprometidas com a diferenciação em um número menor de células, se comparadas à célula-tronco totipotente (Zigoto) ou à célula-tronco plutipotente (célula-tronco embrionária). Por esse motivo as células-tronco, contidas nos diferentes folhetos germinativos, são chamadas de multipotentes. Mesmo com a sua potencialidade reduzida, as células-tronco multipotentes dão origem a um grande número de células terminalmente diferenciadas. No entanto, elas estão comprometidas com um grupo específico de órgãos e tecidos.

CÉLULAS-TRONCO MULTIPOTENTES	ECTODERMA	Originam células do sistema nervoso e pele.
	MESODERMA	Originam células do sistema circulatório (coração e vasos sanguíneos).
	ENDODERMA	Originam células que formam os órgãos do trato gastrointestinal, bem como os ossos e cartilagens.

Se imaginarmos o número de tipos celulares, que geralmente constituem cada órgão ou tecido, teremos a percepção clara de que, apesar da perda de potencialidade, as células-tronco multipotentes têm grande importância neste contexto biológico ao originar tipos celulares através de autorrenovação e diferenciação em amplificadoras transitórias.

À medida que o desenvolvimento embrionário avança, após o surgimento dos folhetos germinativos, aumenta-se o número de células e o número de fenótipos celulares terminalmente diferenciados. Porém, essa progressão não limita a existência e a funcionalidade das células-tronco. Mas, sem dúvida, cada célula-tronco remanescente em um período mais adiante do desenvolvimento, apresenta uma potencialidade reduzida. Ao se atingir

CONCEITO

Apoptose

Morte celular programada através de um processo onde a célula reduz o volume do seu citoplasma, fragmenta o seu DNA e fornece seus elementos para o meio externo.

COMENTÁRIO

Oligopotentes

Do latim, *Oligo* = pouco, o termo oligopotente ainda é questionado entre os estudiosos, pois enquanto uma corrente defende essa nomenclatura outra defende que tratam-se de células-tronco multipotentes com um espectro de potencialidade reduzido.

períodos tardios do desenvolvimento, boa parte dos mais de cem tipos celulares existentes em mamíferos, já está diferenciada, ainda que eles não estejam totalmente amadurecidos.

EXEMPLO

Um neurônio do córtex cerebral encontra-se diferenciado e contém um corpo celular, axônios e dendritos, que existem de maneira rudimentar, mas sem suas conexões funcionais totalmente estabelecidas com outros neurônios. Algumas células já diferenciadas, nesse período, não constituirão, obrigatoriamente, o tecido pós-natal ou adulto. Algumas dessas células desempenham papéis fundamentais durante períodos críticos da formação dos tecidos, viabilizando as etapas que se sucedem até a formação completa do indivíduo.

Ao término do cumprimento do seu papel biológico, durante o desenvolvimento embrionário, as células de suporte morrem por ***apoptose*** ou diferenciam-se terminalmente. Assim, elas cedem seus elementos estruturais viabilizando o surgimento de novas células ou assumem características celulares que contribuem para a funcionalidade do tecido maduro.

As células-tronco remanescentes, chamadas de células-tronco ***oligopotentes*** dispõem do papel fundamental de suprir a demanda por células que morreram por apoptose após cumprirem sua função no tecido embrionário. Essas células-tronco têm sua potencialidade ainda mais reduzida se comparadas às células-tronco multipotentes.

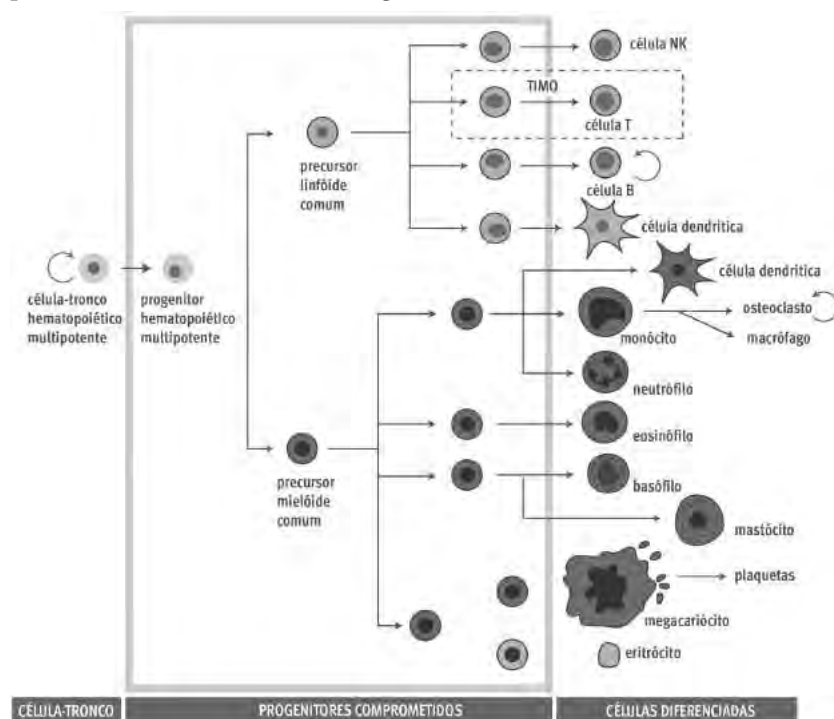
O papel biológico de células-tronco multi/oligopotentes segue além do período embrionário, já que os processos de renovação tecidual ocorrem efetivamente, não em todos, mas em boa parte dos tecidos adultos que mantêm um nicho contendo células-tronco. As células-tronco, no indivíduo adulto, e a renovação tecidual serão nossa próxima abordagem.

As células-tronco do tecido maduro e a renovação tecidual

As células-tronco multipotentes existem na fase adulta e se mantém funcionais durante boa parte, senão durante toda a vida do indivíduo.

ATENÇÃO

Sua principal função é renovar a população de células que naturalmente morrem após cumprirem seu papel biológico nos tecidos aos quais estão alocados. Estas células são chamadas de células-tronco tecido específicas e têm sido caracterizadas em boa parte dos órgãos e tecidos de vertebrados superiores.

É interessante observarmos que mesmo em espécies evolutivamente inferiores, encontramos célula-tronco tecido específicas com grande

potencialidade e capacidade de gerar células que viabilizam a regeneração e recuperação funcional.

EXEMPLO

Um anfíbio, por exemplo, uma salamandra, que por ventura tenha um membro amputado é capaz de regenerar todos os tecidos que constituem o membro perdido. Assim, à medida que uma espécie se torna mais complexa, o potencial regenerativo de seus órgãos e tecidos reduz. Uma das justificativas para modificação desse potencial regenerativo se deve à redução no número e na potencialidade das células-tronco tecido específicas. No entanto, todos os organismos multicelulares tendem a renovar células na fase adulta com maior ou menor frequência, independente do seu grau de evolução.

O exemplo mais didático sobre o papel das células-tronco tecido específicas pode ser retirado através da análise do tecido sanguíneo. Trata-se de um tecido fluido, onde suas células encontram-se dispersas em uma solução rica em proteínas e carboidratos, chamado de plasma sanguíneo. Dentre os diferentes tipos celulares contidos no tecido sanguíneo, as ***hemácias***, possuem um ***tempo de vida*** médio de 120 dias.

Apesar da vida curta das hemácias, desde o nascimento até o fim da vida, o tecido sanguíneo possui uma contagem de hemácias dentro dos valores mínimos essenciais para que as trocas gasosas mantenham o organismo vivo. A renovação de hemácias, no tecido sanguíneo, ocorre de maneira eficaz, pois existe uma célula-tronco hematopoiética capaz de prover essas novas células ao longo de toda a existência do indivíduo.

A diferenciação de células-tronco hematopoiéticas.

CONCEITO

Hemácias

Células sem núcleo celular também conhecidas como eritrócitos.

COMENTÁRIO

Tempo de vida

O período de vida das hemácias é curtíssimo se comparado com células de outros tecidos, tais como algumas populações de neurônios, que podem coexistir ao longo de toda a vida de um ser humano.

COMENTÁRIO

Renovação celular

É interessante observarmos que a renovação celular no tecido sanguíneo já é conhecida há décadas, todavia a identificação das células-tronco, neste tecido, ocorreu aproximadamente meio século após essa descoberta. Além disso, até mesmo os primeiros transplantes de medula óssea foram realizados antes das células-tronco hematopoiéticas serem caracterizadas. Isso mostra que o conhecimento científico traz explicações fundamentais, mesmo que tardiamente e permite o aprimoramento da prática clínica.

CONCEITO

Seleção clonal

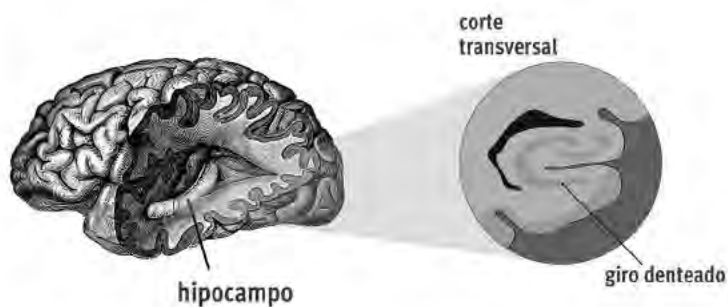
A seleção clonal é a capacidade de uma única célula-tronco, em cultura, formar uma colônia que contenha os tipos celulares relacionados à sua potencialidade.

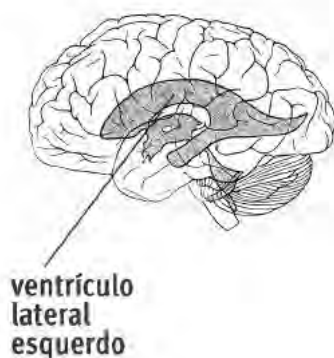
Além das hemácias, as células-tronco hematopoiéticas fornecem outras populações celulares contidas no tecido sanguíneo, dentre elas boa parte das células que constituem a linhagem mieloide do sistema imunológico tais como neutrófilos, basófilos, monócitos/macrófagos, células dendríticas, bem como as células da linhagem linfoide tais como as células T, células B, as células NK e uma subpopulação de células dendríticas .

Todos esses tipos celulares também são renovados, à medida que surge uma demanda funcional por parte do sistema imune. Desta forma, conseguimos perceber a importância de uma célula-tronco, também na fase adulta. O tecido sanguíneo contém duas populações de células-tronco, as células-tronco hematopoéticas como já descritas anteriormente e as mesenquimais. As células-tronco mesenquimais dão origem a outros tipos celulares que constituem o que é chamado de tecido conectivo.

CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAL
TECIDO CONECTIVO
Originam o tecido conjuntivo propriamente dito que contém fibroblastos, células endoteliais e células musculares lisas;
Originam o tecido cartilaginoso que contém condroblastos e condrócitos;
Originam o tecido ósseo que contém, osteblastos, osteócitos e osteoclastos (osteoclastos são derivados da células-tronco hematopoiética) e os vasos sanguíneos que contêm células endoteliais;
Originam as células musculares lisas.

Sabemos que estes tecidos podem regenerar com maior ou menor eficiência e isso se deve, em parte, à capacidade de ***renovação celular*** sustentado pela presença das células-tronco tecido específicas.

Estudos das últimas duas décadas impulsionaram grandes descobertas sobre a presença de células-tronco, em tecidos adultos, até então ditos imutáveis. Este termo imutável está relacionado com a incapacidade de se renovar células originadas durante o período embrionário, isto é, uma vez geradas e, estabelecido o padrão celular do tecido adulto, não haveria renovação celular, apenas uma redução no número total em decorrência da morte celular. Este conceito começou a se modificar à medida que pesquisas foram caracterizando a presença de células-tronco em tecidos como, o cérebro, o coração, o pâncreas e o fígado.

EXEMPLO

No fígado, a célula-tronco identificada pelo potencial de autorrenovação e pela capacidade de formar colônias em cultura a partir de uma *seleção clonal*, já havia sido

identificada e denominada célula-oval. Porém, a potencialidade das células-ovais, como uma célula-tronco, era desconhecida.

O fígado tem a sua capacidade regenerativa em parte, em função da presença das células-tronco hepáticas (as células-ovais) e da capacidade de proliferação de hepatócitos. No entanto, outros parâmetros são fundamentais para a regeneração do tecido hepático, sendo o principal deles a capacidade de remodelamento da matriz extracelular. A soma de todos estes fenômenos permite a regeneração parcial do fígado e de alguns outros órgãos e tecidos do indivíduo adulto.

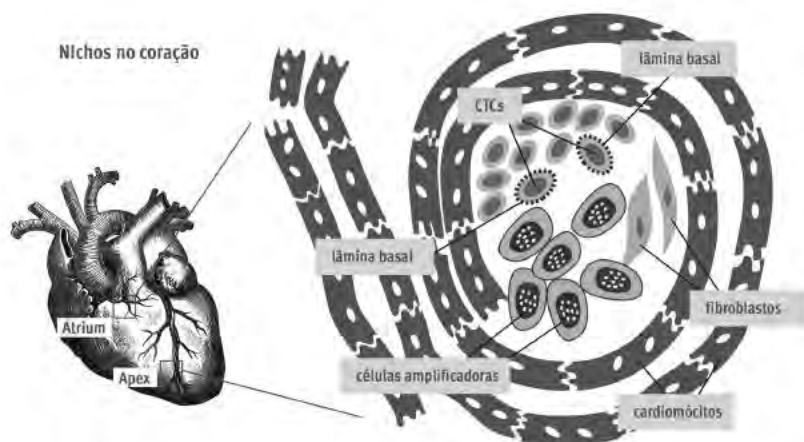
Em outras situações, como no sistema nervoso central, foram identificadas células-tronco multipotentes (células-tronco neurais), capazes de formar neurônios, astrócitos e oligodendrócitos, em duas regiões específicas do cérebro. A primeira região é responsável pela memória espacial e se chama ***hipocampo***. Um segmento específico do hipocampo chamado de giro denteado contém células-tronco neurais. Estas células são responsáveis pela geração de novos neurônios que são incorporados no mesmo segmento do hipocampo, durante a fase adulta, substituindo outros neurônios que morrem por apoptose após cumprirem o seu papel fisiológico.

A segunda região do cérebro onde foi demonstrada a presença de células-tronco neurais localiza-se próximo aos ventrículos laterais, especificamente uma região chamada de zona subventricular.

Esta região também contém células-tronco multipotentes que, no tecido cerebral, dão origem a neurônios imaturos chamados de neuroblastos. Estes neuroblastos possuem uma alta capacidade migratória e, por este motivo, eles migram através de um "caminho" denominado de via migratória rostral ligando a zona subventricular ao bulbo olfatório .

Um caminho relativamente longo, que se destaca nos roedores e exis-

? CURIOSIDADE

Hipocampo

Experimentos com roedores demonstraram que animais mantidos em locais enriquecidos com cores e formas geométricas ou animais estimulados a fazerem exercício voluntário apresentaram um aumento da neurogênese do hipocampo, quando comparados aos animais acondicionados em um ambiente pobre. Isso demonstra que, o ambiente e os hábitos de vida podem influenciar o papel biológico das células-tronco neurais, motivando a formação de novos neurônios e, por consequência, promovendo uma melhora cognitiva.

COMENTÁRIO

Novos neurônios

A capacidade de células-tronco formarem novos neurônios que se incorporam ao tecido adulto, ainda é motivo de intensa discussão entre os diferentes grupos de pesquisadores em todo o mundo.

te em menor intensidade nos humanos. Esse fenômeno fornece ***novos neurônios*** para uma região que requer constantemente a substituição dessas células, para que a função sensorial olfativa seja mantida. Outras regiões do sistema nervoso têm sido caracterizadas pela presença de células-tronco multipotentes no indivíduo adulto, dentre elas a retina, o córtex cerebral e o cerebelo.

As células musculares do tecido cardíaco adulto (cardiomiócitos), bem como as células musculares esqueléticas, durante um longo período, foram definidas como células sem a capacidade de proliferar. E, por este motivo, o tecido muscular, assim como o tecido neural, era considerado imutável e sem a capacidade de reposição de células durante a vida adulta. A falta de técnicas precisas e confiáveis que demonstrassem, com clareza, evidências contrárias ao que se propunha, desde os primórdios dos estudos histológicos, representavam uma grande limitação para se demonstrar o que de fato ocorria ao longo da fase madura desses órgãos. É possível encontrarmos, na literatura, estudos pioneiros das décadas de 1930 e 1940, onde pesquisadores, a partir de técnicas rudimentares como a autorradiografia, demonstraram que neurônios e cardiomiócitos eram capazes de proliferar. Todavia, apenas com a evolução tecnológica de métodos bioquímicos e imunobioquímicos, associados com a microscopia óptica, se pode comprovar as primeiras evidências de que, não só existe proliferação celular de cardiomiócitos como também há células-tronco multipotentes no coração.

A- Ilustração de uma vista lateral do coração de um ser humano adulto onde é possível localizar duas regiões que contêm células-tronco cardíacas, o Atrium e o Apex. B- Ilustração da ampliação das áreas indicadas em A, demonstrando em detalhes o nicho contendo as células-tronco cardíacas. As setas indicam a localização exata de cada um dos tipos celulares e lâmina basal, descritos nas legendas. CTCs: células-tronco cardíacas.

Esse avanço tecnológico das últimas décadas nos permite hoje afirmar que, boa parte dos órgãos e tecidos tem o seu potencial regenerativo, e esse potencial está relacionado com a presença das células-tronco multipotentes. Ainda assim, em alguns tecidos, há uma longa distância

entre a existência de uma célula-tronco e a capacidade plena de renovação tecidual ou de regeneração. Os diferentes tecidos aqui comentados demonstram uma variação na capacidade de renovação tecidual, apesar de todos eles possuírem suas respectivas células-tronco multipotentes.

EXEMPLO

Enquanto a célula-tronco hematopoiética tem seu papel biológico evidente na renovação tecidual do tecido sanguíneo, em curto prazo, a célula-tronco cardíaca de um ser humano pode ser responsável pela renovação dos cardiomiócitos uma vez e meia ao longo de toda vida de um ser humano, isto é, em longuíssimo prazo. Boa parte dos trabalhos que identificou células-tronco tecido específicas utilizou sistemas artificiais de cultivo de células (as culturas primárias).

O conhecimento adquirido, nos últimos anos, está permitindo a identificação e a compreensão sobre a biologia das células-tronco tecido específicas. Esse mesmo conhecimento tem sido aplicado em estudos básicos e clínicos visando ao desenvolvimento de estratégias eficazes para o tratamento de doenças e lesões. No próximo tópico, discutiremos aplicação de células-tronco pluripotentes e multipotentes em terapias celulares com o intuito de se esclarecer quais são os limites entre a ficção, gerada pela necessidade de curar doenças, e os avanços reais conquistados pela ciência.

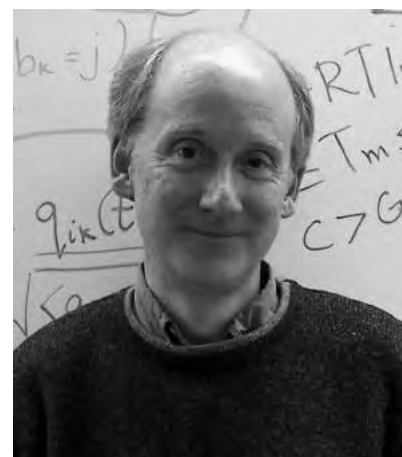
Terapias celulares: estratégias experimentais utilizando células-tronco

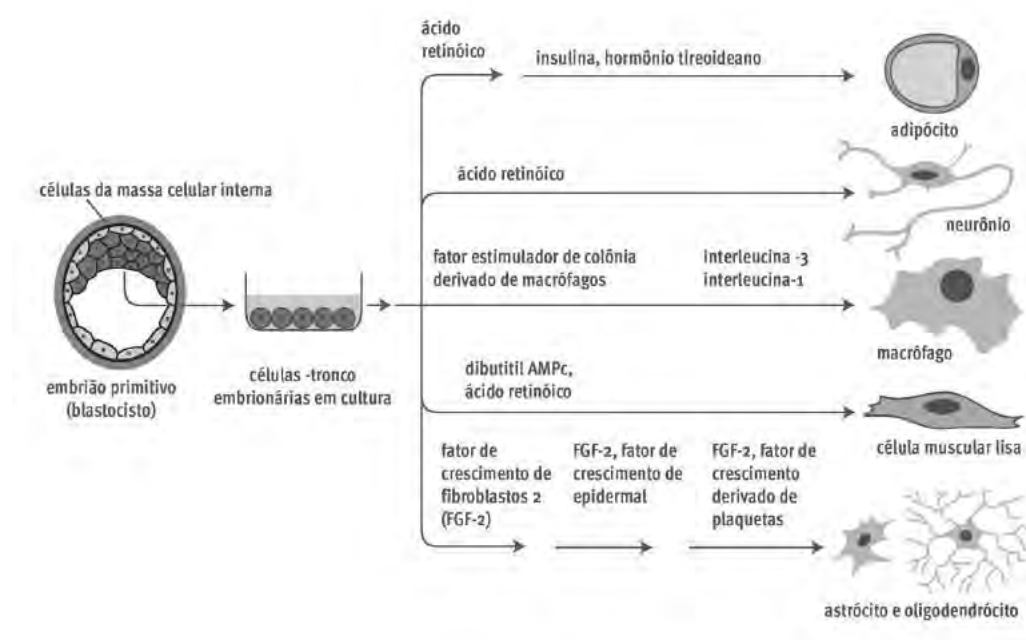
As células-tronco, com diferentes potencialidades, têm sido isoladas e mantidas em cultura seguindo protocolos específicos que atendem às necessidades de cultivo para células pluripotentes e multipotentes. Algumas dessas populações celulares ao perderem a ***senescência***, que significa proliferarem de maneira indefinida, sem perder a característica de células-tronco, se tornam linhagem celulares imortalizadas.

A geração da primeira linhagem de células-tronco embrionárias pluripotentes de humanos foi obtida em 1998, pelo pesquisador americano ***James Thomson***.

COMENTÁRIO

Esse período foi um marco na historia da Biologia Celular, pois a partir da geração de linhagens foi possível se compreender melhor a biologia dessas células em cultura. Desta forma, foi possível desenhar estratégias para potenciais aplicações em terapias celulares visando repor células perdidas em decorrência de uma doença ou lesão.

CONCEITO

Senescência

É o conjunto de fenômenos que corresponde ao processo natural de envelhecimento celular.

AUTOR

James Thomson

James Alexander é um biólogo americano conhecido por seus estudos sobre célula-tronco embrionária humana.

Outras linhagens de células-tronco embrionárias foram obtidas, inclusive por pesquisadores brasileiros. Por se tratarem de células pluripotentes, as células-tronco embrionárias podem se diferenciar em qualquer tipo celular do organismo. Inicialmente, quando mantidas em um ambiente de cultivo que mimetiza o ambiente original do qual elas derivaram, a massa celular interna do blastocisto, essas células formam colônias individuais que se mantêm aderidas a um tapete de fibroblastos. Na presença de dois fatores de crescimento, o fator de crescimento epidermal (do inglês, *epidemal growth factor,* EGF) e o fator de crescimento de fibroblastos básico (do inglês, *basic fibroblast growth factor,* bFGF) as células-tronco embrionárias se mantêm indiferenciadas em cultura. Ao se remover EGF e bFGF do meio de cultivo e adicionar uma combinação específica de fatores de crescimento e diferenciação é possível direcionar a diferenciação dessas células para um fenótipo específico.

Estratégias para diferenciação de células-tronco embrionárias a partir do sistema de cultivo *in vitro.* Esquema ilustrativo demonstrando exemplos de estratégias para diferenciação de células-tronco embrionárias em cultura, de acordo com uma combinação específica de fatores. Observar as diferenças de estratégias para cada processo de diferenciação celular.

Em teoria, após a diferenciação das células-tronco embrionárias, *in vitro,* seria possível injetar essas células em uma região onde houvesse a perda de células em decorrência de um **insulto.**

EXEMPLO

Quando ocorrem doenças degenerativas ou episódios isquêmicos, há uma perda massiva de células do tecido doente e assim, sua funcionalidade fica comprometida. A injeção de células pré-diferenciadas, nesses casos, também seria uma estratégia plausível para substituir o que se perdeu.

COMENTÁRIO

Estudos sérios demonstram que, não há eficácia comprovada dessas terapias, pois as células pré-diferenciadas raramente se integram ao tecido doente. Boa parte das células morre, e da que sobrevive uma porcentagem muito reduzida se torna fisiologicamente ativa.

CONCEITO

Teratomas

Tumor derivado de células pluripotentes. Caracterizado pela presença caótica de diversos tipos celulares sem qualquer organização tecidual.

Outra possibilidade que também tem sido vastamente testada é a injeção direta das células-tronco embrionárias, sem diferenciação prévia, no local no qual há uma lesão ou doença do tecido. Essa estratégia apresenta resultados melhores e, de fato, o ambiente onde essas células são injetadas, rico em moléculas indutoras, pode promover a diferenciação em células que foram perdidas em função da doença ou lesão. Porém, uma característica negativa das células-tronco embrionárias é a propensão para formar tumores no local em que foram injetadas.

Muitos estudos observaram a formação de ***teratomas,*** algumas semanas após a injeção das células em modelos experimentais utilizando-se ratos e camundongos.

Certamente, se levarmos em consideração o grande número de estudos utilizando-se células-tronco embrionárias observaremos resultados positivos e convincentes acerca da eficácia na reposição de células e recuperação funcional.

ATENÇÃO

No entanto, a possibilidade de ocorrerem efeitos colaterais, tais como a formação de tumores, nos obriga a compreender melhor a fisiologia dessas células para que apenas os benefícios possam ser aproveitados. Contrariando as expectativas iniciais, atualmente há poucos protocolos aprovados pelos comitês de biossegurança para a realização de testes clínicos utilizando-se de células-tronco.

Com relação à utilização das células-tronco multipotentes adultas (tecido específicas), em terapias para reposição de células, testes semelhantes aos utilizados com células-tronco embrionárias foram realizados em modelos experimentais utilizando-se roedores e primatas. Da mesma forma, a porcentagem de células pré-diferenciadas que, de fato, se integram ao tecido doente é muito pequena em relação ao número de células injetadas. Além disso, essas células-tronco apresentam uma grande dificuldade para expandir em cultura, o que torna o seu custo de cultivo muito elevado, em função do gasto com meio de cultivo e fatores de crescimento que sustentam essas células artificialmente vivas e proliferantes. Apesar de os avanços das pesquisas com células-tronco multipotentes adultas, a maior aplicação, em terapias celulares, continua sendo o transplante de medula óssea.

EXEMPLO

O transplante de medula óssea tem sido indicado, quando há compatibilidade entre doador e receptor, em casos específicos de doenças autoimunes e leucemias (câncer do tecido sanguíneo). Este sucesso se deve a potencialidade das células-tronco hematopoiéticas e mesenquimais. Uma vez que, a primeira população (doador) fornece os precursores linfoides e mieloides necessários para substituir células doentes por células saudáveis e, a segunda (receptor) tem a capacidade de gerar o tecido de sustentação necessário para a fixação da nova medula no interior dos ossos longos.

Há uma segunda grande linha de pesquisas utilizando-se de terapias celulares, que em vez de tentar substituir células que foram perdidas, se propõe a dar o suporte ideal para que não ocorra a perda de células. Células essas que, potencialmente, podem morrer em decorrência da progressão de uma doença degenerativa ou devido à injúria causada por uma lesão. Este suporte consiste em garantir a qualidade do microambiente, até então hostil, em função das alterações sofridas pelo tecido doente.

EXEMPLO

Falta de perfusão sanguínea adequada por causa de uma isquemia (infarto do miocárdio ou acidente vascular cerebral, o AVC) e a toxicidade do ambiente extracelular, em função da morte de células por apoptose ou necrose, são exemplos de alterações sofridas pelo tecido doente.

Esta toxicidade do ambiente debilitado pode ser exemplificada quando neurônios excitatórios do córtex cerebral, comprometidos pelo AVC, morrem e liberam o seu neurotransmissor no ambiente tecidual. Este neurotransmissor, o glutamato, em altas concentrações é tóxico e provoca a morte de uma segunda população de neurônios que não foram diretamente acometidos pela falta de perfusão sanguínea ocorrida pelo AVC. As células-tronco multipotentes têm sido utilizadas em exemplos como esses e, em vez de substituírem células, elas previnem a progressão de uma lesão ou doença.

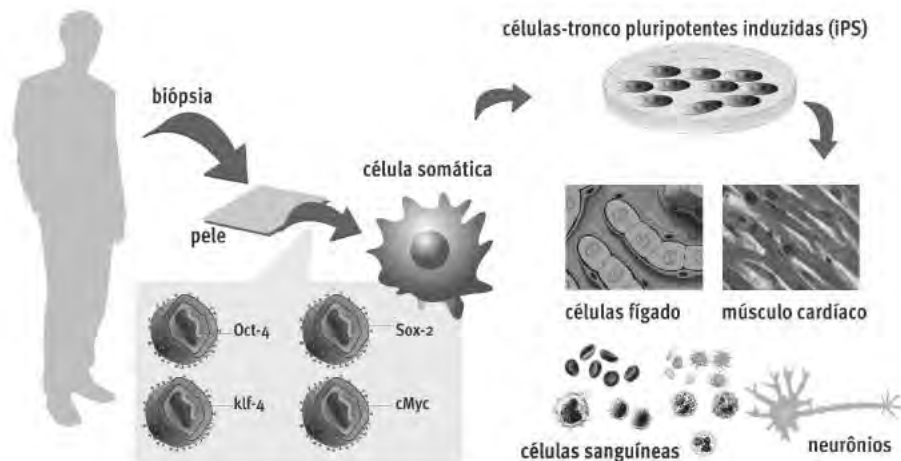
Como as células-tronco previnem o desenvolvimento de uma doença?

Liberando pequenas moléculas, chamadas de fatores tróficos, que induzem a sobrevivência das células e inibem a morte celular. Além disso, essas células também promovem a captura de moléculas tóxicas (como o glutamato), no microambiente, modulam a atividade do sistema imune para que suas células não causem danos teciduais ainda maiores e secretam fatores solúveis que induzem a formação de novos vasos sanguíneos.

Por estes motivos, a terapia celular preventiva, tem se mostrado exequível, segura e eficaz, em modelos experimentais de laboratório, bem como em testes clínicos.

COMENTÁRIO

Atualmente, este tipo de terapia representa o que há de mais promissor no contexto da utilização de células-tronco como forma de tratamento. Mas, ainda há esperanças para a reposição de células que foram

perdidas? Sim, e boa parte dessa esperança está depositada sobre as células-tronco artificiais, as chamadas células-tronco pluripotentes induzidas.

Células-tronco pluripotentes induzidas (iPS): as células-tronco artificiais

Uma das grandes questões sobre a utilização de células-tronco pluripotentes diz respeito à sua obtenção para estudos científicos e para a aplicação em terapias celulares. Sendo as células-tronco embrionárias, até então, a principal representante das células pluripotentes, o seu estudo depende da obtenção a partir de amostras da massa celular interna de blastocistos. Isto significa o sacrifício de uma estrutura que potencialmente originaria um novo indivíduo.

COMENTÁRIO

Há uma grande discussão sobre aspectos éticos da obtenção de células-tronco embrionárias para fins de pesquisa e terapias celulares em função da renúncia à existência de um novo ser. Esta polêmica representa uma grande dificuldade para se obter, pelos comitês de ética, a aprovação de protocolos experimentais para pesquisa com células-tronco embrionárias.

A partir deste problema, houve uma grande empreitada científica, na década passada, para que fossem estabelecidas outras formas de obtenção de células pluripotentes. Após algumas tentativas frustradas, em 2006, a revista científica britânica *Nature* publicou o que seria o primeiro trabalho demonstrando que, uma célula somática poderia se transformar em uma célula pluripotente com características de uma célula-tronco. Um grupo de pesquisadores japoneses, da Universidade de Kyoto, liderados por Shinya Yamanaka, demonstrou que ao se inserir quatro genes (*klf-4, cMyc, Sox-2 e Oct-3/4*), no núcleo de fibroblastos obtidos da cauda de um camundongo, é possível converter essa célula em uma célula pluripotente.

Esquema da geração de células-tronco pluripotentes induzidas (iPS) a partir de amostras de pele. Ilustração autoexplicativa sobre cada uma das etapas empregadas para a obtenção de células-tronco pluri-

AUTOR

Shinya Yamanaka

Shinya Yamanaka, médico e pesquisador japônes, laureado com o Nobel de Medicina de 2012, juntamente com John Gurdon, "pela descoberta de que células maduras podem ser reprogramadas de modo a tornarem-se pluripotentes".

AUTOR

John B. Gurdon

Sir John Bertrand Gurdon, biólogo britânico, célebre por suas pesquisas pioneiras em transplante nuclear e pelo recebimento do Nobel de Medicina e Fisiologia em, 2012, juntamente com seu colega Yamanaka.

potentes induzidas. Repare que, a partir de amostras de pele humana, é possível se inserir quatro genes no núcleo dos fibroblastos que foram obtidos após o cultivo de amostras de pele. Assim, é possível transformá-las em células-tronco pluripotentes. Estas células, assim como as células-tronco embrionárias, têm potencial de diferenciação em qualquer tipo celular do indivíduo.

Dentre os genes inseridos, *Sox-2* e *Oct3/4* são genes que conferem pluripotência e *cMyc* e *klf-4* são genes associados com o controle da proliferação celular. Essa célula pluripotente gerada artificialmente tem as mesmas características de uma célula-tronco embrionária, com a capacidade de se diferenciar, sob condições definidas de cultivo, em qualquer célula do organismo. Por se tratar de uma célula induzida artificialmente definiu-se a nomenclatura de célula-tronco pluripotente induzida (do inglês, *induced Pluripotent Stem Cell,* iPS).

ATENÇÃO

Esta conquista se sobrepôs aos problemas éticos e religiosos, uma vez que a fonte não seriam mais embriões e sim células terminalmente diferenciadas. Pelo conjunto da obra, a partir de 2006, *Shinya Yamanaka* dividiu com o pesquisador britânico *John B. Gurdon*, em 2012, o prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia.

Com a geração das iPS, houve um crescimento exponencial no conhecimento sobre a fisiologia das células-tronco e um avanço nas tentativas de se estabelecer terapias celulares visando à substituição de células. No entanto, o maior benefício da obtenção das iPS foi a possibilidade de se isolar a célula de qualquer indivíduo e transformá-la em uma célula pluripotente.

ATENÇÃO

O isolamento da célula e sua conversão em pluripotente permite a obtenção de células terminalmente diferenciadas, com todas as características genéticas do individuo doador. Assim, a possibilidade de rejeição após transplante é mínima e a expansão até o número ideal de células ocorre com tempo significativamente reduzido de cultivo. Além disso, a economia e viabilidade do procedimento são muito maiores.

Outro aspecto tão importante quanto a utilização de iPS, em terapias celulares, é a possibilidade de se estudar as características fisiopatológicas de células de um indivíduo doente sem a necessidade de procedimentos invasivos, apenas obtendo-se um minúsculo fragmento de pele que forneça alguns fibroblastos.

Com o avanço dos estudos utilizando-se células-tronco, com o advento das iPS, portadores de doenças congênitas ou acometidos por doenças degenerativas ou tumorais, podem ter seus tratamentos farmaco-

lógicos otimizados, de forma que a combinação e a concentração ideal dos medicamentos possa obedecer características individuais.

REFLEXÃO

Assim, a ciência se aproxima do que prediz a evolução no tratamento de doenças e, em vez de tratar o coletivo, desrespeitando características individuais, pode propor o tratamento específico do indivíduo, respeitando suas características genéticas exclusivas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTS, Bruce ; JOHNSON, Alexander; LEWIS, Julian; RAFF, Martin; ROBERTS, Keith; WALTER, Peter. *Molecular Biology of the Cell.* 5th ed. New York: Garland Science, 2007.

GILBERT, Scott F. *Developmental Biology.* 10th ed. Sunderland: Sinauer Associates, Inc., 2013.

BLAU HM, Yamanaka S. Nuclear reprogramming to a pluripotent state by three approaches. In: *Nature* 465. 2010. p. 704-12.

IMAGENS DO CAPÍTULO

P. 170 **Adaptada de ALBERTS et al. Molecular Biology of the Cell. New York, Garland Science, 2007**

P. 172 **Cláudio Sarmento/Estácio**

P. 173 **Cláudio Sarmento/Adaptada de: Molecular Biology of the Cell; Alberts et al., 2007 Garland Science, New York ALBERTS et al. Molecular Biology of the Cell. New York, Garland Science, 2007.**

P. 175 **Cláudio Sarmento/Estácio**

P. 178 **A - Tahe Fertilidad/Flickr**

P. 178 **B- Wikipedia/public domain**

P. 181 **Cláudio Sarmento/Estácio**

P. 183 **Wikipedia/domínio público**

P. 184 **Cláudio Sarmento/Estacio/ wikipedia – domínio público**

P. 185 **Jane Gitschier**

P. 186 **Cláudio Sarmento/Estácio**

P. 189 **Cláudio Sarmento/Estácio - Wikipedia**

P. 190 **Yamanaka**
Fonte: Yamanaka/Wikipedia

P. 190 **John B. Gurdon**
Fonte: Deryck Chan/wikipedia